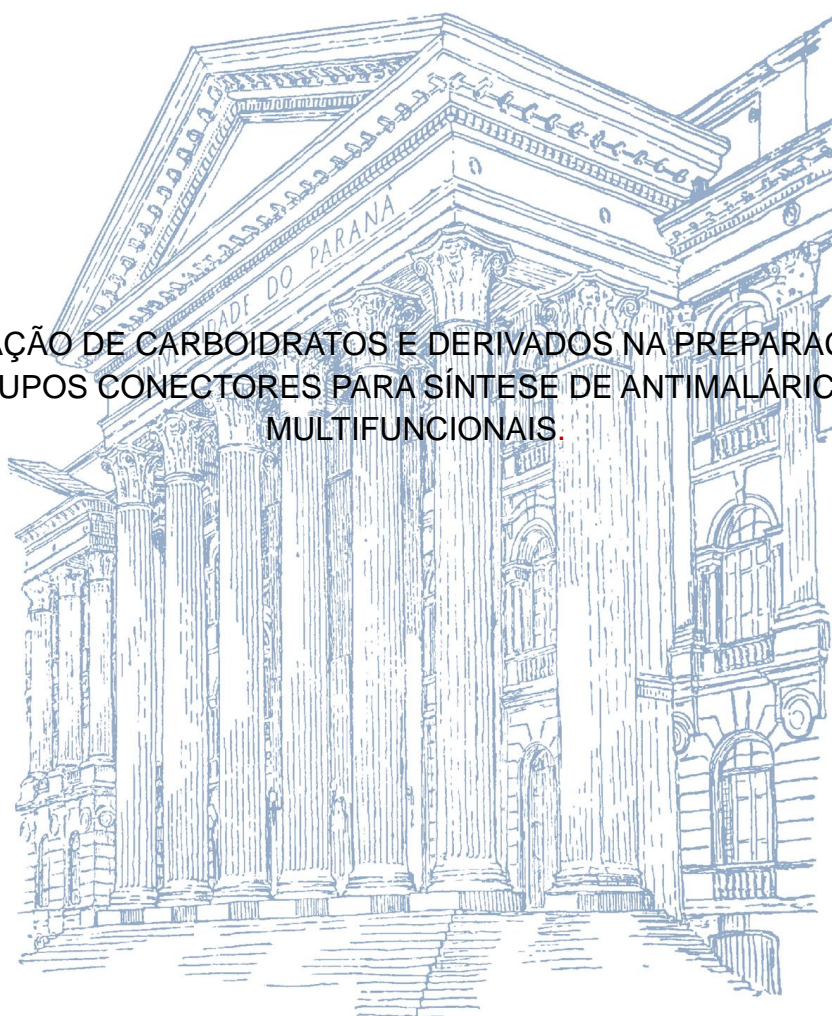


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MATHEUS MURMEL GUIMARÃES

UTILIZAÇÃO DE CARBOIDRATOS E DERIVADOS NA PREPARAÇÃO DE
GRUPOS CONECTORES PARA SÍNTESE DE ANTIMALÁRICOS
MULTIFUNCIONAIS.



CURITIBA

2016

MATHEUS MURMEL GUIMARÃES

UTILIZAÇÃO DE CARBOIDRATOS E DERIVADOS NA PREPARAÇÃO DE
GRUPOS CONECTORES PARA SÍNTESE DE ANTIMALÁRICOS
MULTIFUNCIONAIS.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos, linha de pesquisa em Síntese de Fármacos, do Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Alan Guilherme Gonçalves.

Co-orientadores: Prof. Dr. Diogo R. B. Ducatti.

Prof. Dr. Roberto Pontarolo.

CURITIBA

2016

Guimarães, Matheus Murnel

Utilização de carboidratos e derivados na preparação de grupos conectores para síntese de antimaláricos multifuncionais / Matheus Murnel Guimarães – Curitiba, 2016.

147 f. ; il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Alan Guilherme Gonçalves

Coorientador: Professor Dr. Diogo Ricardo Bazan Ducatti

Coorientador: Professor Dr. Roberto Pontarolo

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. Malária. 2. Carboidratos. 3. Mefloquina. 4. Monossacarídeos. I. Gonçalves, Alan Guilherme. II. Ducatti, Diogo Ricardo Bazan. III. Pontarolo, Roberto. IV. Universidade Federal do Paraná. V. Título.

CDD 616.9362

TERMO DE APROVAÇÃO

MATHEUS MURMEL GUIMARÃES

Título: "UTILIZAÇÃO DE CARBOIDRATOS E DERIVADOS NA PREPARAÇÃO DE GRUPOS CONECTORES PARA SÍNTESE DE ANTIMALÁRICOS MULTIFUNCIONAIS"

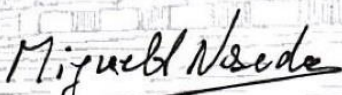
Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.



Prof. Dr. Alar Guilherme Gonçalves
Orientador



Prof^a. Dr^a. Angela Cristina Leal Badaró Trindade
Universidade Federal do Paraná



Prof. Dr. Miguel Daniel Nosedá
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 25 de fevereiro de 2016.

AGRADECIMENTOS

Deus, obrigado por me permitir viver com saúde, família, conforto, amizades e amores em minha vida. Obrigado por colocar à minha frente oportunidades, capacidade de discernimento, valores morais e estudo. Sem isso, certamente nada seria possível.

Meus pais, Marcionei e Lisiane, obrigado por me amarem incondicionalmente desde o momento em que eu era apenas uma ideia. Obrigado por me colocarem em seus planos e perspectivas, por me criarem firmado em valores, por me fornecerem educação, saúde e principalmente a estrutura familiar mais sólida que já fui capaz de presenciar. Obrigado por permearem cada ação voltada a mim com amor. Obrigado por insistirem em mim.

Meus irmãos, Gustavo e Manoella, obrigado por partilharem os momentos importantes de minha vida, em quaisquer âmbitos eles sejam. Obrigado por fornecerem carinho, companhia, apoio, e noites com riso em frente à televisão. Obrigado por aturarem os dias de mau-humor, mas obrigado principalmente por me amarem neles. Sem vocês não só a vida seria amarga, mas sem sentido.

Meu orientador, Professor Dr. Alan Guilherme Gonçalves, obrigado por me dar a oportunidade de trabalhar com você, de me transmitir sua experiência e conhecimento, e de me fazer uma pessoa maior. Obrigado pela disposição em corrigir meus trabalhos, dar conselhos e se importar comigo, o que vai além da função de um orientador. Meus co-orientadores, Dr. Diogo Ducatti e Dr. Roberto Pontarolo, obrigado por aceitarem fazer parte deste trabalho, fornecendo infraestrutura, materiais, e principalmente o conhecimento, sem o qual eu não teria sido capaz de realizar um décimo do que fiz nesses dois últimos anos.

Meus colegas de grupo de pesquisa: doutorandos Juliana, Lais, Jaqueline, Gislaine, Janaina e Edson; mestrandas Ingrid e Marina, ICs Vítor e Lucas e Dra. Stephanie. Obrigado por partilharem o cotidiano, mas principalmente por serem mais que colegas: amigos. Todo o apoio e auxílio em experimentos, todas as dicas e

conselhos não passaram despercebidos, e contribuíram significativamente para todo o trabalho. Meus amigos, obrigado por fazerem do laboratório um lugar prazeroso de se trabalhar. Agradecimento especial à doutoranda Juliana, por me apoiar e ajudar em absolutamente todos os momentos do meu mestrado. Meu apreço por você é enorme.

Professores Miguel D. Nosedá e Angela C. L. B. Trindade, membros da banca examinadora, obrigado pela disposição em avaliarem este trabalho, e por todas as suas contribuições.

Departamento de Bioquímica da UFPR, principalmente professores Miguel D. Nosedá, Maria Eugênia Duarte, Marcelo Müller dos Santos e Guilherme L. Sassaki, obrigado por me permitirem utilizar a infraestrutura laboratorial, tal como os espectrômetros de massas e RMN.

Professores do Departamento de Farmácia da UFPR, Angela C. L. B. Trindade e Sandra M. W. Barreira, obrigado por me permitirem utilizar materiais e infraestrutura sempre que necessário. Foi essencial para a realização do trabalho.

Departamento de Química da UFPR, especialmente o professor Andersson Barison, coordenador do centro de pesquisas em Ressonância Magnética Nuclear. Obrigado por me treinar para utilização do espectrômetro de RMN e por me conceder autonomia na aquisição de espectros.

Minha namorada, Sarah, obrigado por seu amor. Obrigado por sua companhia em momentos fáceis e difíceis, por sua atitude motivadora e alegre, por sua paciência em assistir Cavaleiros do Zodíaco nos finais de semana, e por partilhar comigo quaisquer momentos da vida com interesse genuíno, e paixão constante. Obrigado por ser a minha princesinha.

Meus queridos amigos: Eduardo Erbano, Ingrid Zattoni, Carolina Garcia, Gabriela Garcia, Amanda Garcia, Edgar Malmann, Camila Hartmann, Mateus Todeschini, Carlos Todeschini, Joyce Todeschini, Milton Lopes, Solange Lopes, Thalita Lopes, Thiago Lopes, Marcel Astolphe, Vanessa Liebl, Guilherme Mürmel, Thiagra Bardini, Rafael Erbano, Helena Secco, Thiago Sabino da Silva, Leandro Ortega e Lais Mattos, obrigado por serem meus amigos, orbitando no céu como um carretel!

RESUMO

Uma doença de longo histórico existencial, a malária é uma parasitose que ainda coloca diversas regiões do mundo em risco, ocasionando milhares de mortes. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a terapia combinada com artemisininas (ACT) como a primeira linha de tratamento medicamentoso para a doença, frequentemente em associações com o cloridrato de mefloquina. De modo similar a outras doenças multifatoriais, diversos estudos vêm sendo realizados acerca do tratamento da malária com o uso de compostos multifuncionais (Designed Multiple Ligands, DMLs), os quais apresentam potencial de agir simultaneamente sobre diferentes fatores patológicos. Uma das estratégias para a síntese de DMLs consiste na ligação molecular de fármacos distintos utilizando grupos conectores (*linkers*). As propriedades físico-químicas dos monossacarídeos e seus derivados os tornam um bom alvo para uso como grupos conectores para a síntese de antimaláricos multifuncionais. Até o momento, não foram descritos na literatura o uso de derivados do ácido tartárico na associação molecular entre a mefloquina e outros antimaláricos.

O presente trabalho teve como foco a avaliação de um monossacarídeo (D-glucose) e um ácido aldárico (ácido L-(+)-tartárico) como grupos conectores em duas estratégias distintas para a formação de DMLs de artemisinina e mefloquina. Modificações na estrutura do ácido tartárico geraram um *linker* isopropilideno derivado, o qual foi ligado ao nitrogênio piperidínico do cloridrato de mefloquina por meio de uma reação de Steglich na presença de DCC, com a formação de um grupo amida. O padrão de desdobramento de sinais da mistura diastereoisomérica formada sugere a formação predominante de um dos confôrmeros distintos para um dos dois diastereoisômeros formados. Esses produtos apresentaram indícios de ligação à dihidroartemisinina frente a análises espectrométricas, para a formação de DMLs. Os resultados apresentados constituem um importante ponto de partida na aplicação de fármacos associados a carboidratos e derivados no tratamento da malária e, conseqüentemente, demais doenças multifatoriais.

Palavras-chave: Malária, Artemisinina, Mefloquina, DML, monossacarídeos.

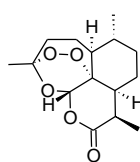
ABSTRACT

A long-existing disease, malaria still is a parasitosis endangering many regions around worldwide, causing thousands of deaths. World Health Organization (WHO) recommends artemisinin combination therapy (ACT) as the first-line medical treatment for malaria, often associating it with mefloquine hydrochloride. In the same way to other multifactorial diseases, several studies have been conducted on using designed multiple ligands (DMLs) on malaria treatment. This class of compounds demonstrates potential on acting simultaneously over multiple targets of the pathologies. One of the strategies for DML synthesis consists on linking distinct drugs covalently through connecting groups (*linkers*). The physiochemical properties of monosaccharides and their derivatives make them an interesting study subject as antimalarial DMLs connecting groups.). Recent literature does not describe the use of tartaric acid derivatives as connecting groups between mefloquine and other antimalarials.

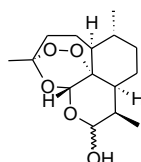
This study focused on evaluating a monosaccharide (D-glucose) and an aldaric acid (L-(+)-tartaric acid) as *linkers* in two different strategies for artemisinin-mefloquine DML synthesis. Modifications in tartaric acid structure generated an isopropylidene *linker*, which reacted with mefloquine hydrochloride's piperidine nitrogen by Steglich amidation in the presence of catalyst DCC. NMR signal patterns of the diastereoisomeric mixture suggest the predominant formation of one of the two obtained conformers. This diastereoisomeric mixture showed spectrometrical evidence on DML formation through dihydroartemisinin conjugation. The present results can be considered an important starting point for the use of carbohydrate-associated drugs for malaria and other multifactorial diseases treatment.

Keywords: Malaria, Artemisinin, Mefloquine, DML, monosaccharides.

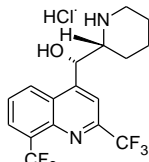
LISTA DAS PRINCIPAIS ESTRUTURAS APRESENTADAS NESTE TRABALHO



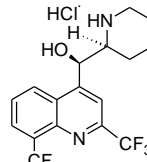
14



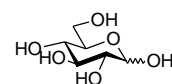
15



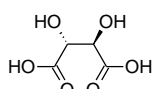
25



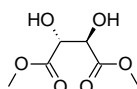
26



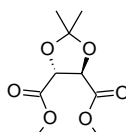
37



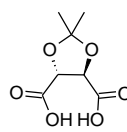
44



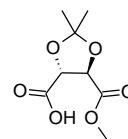
45



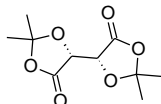
46



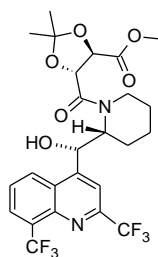
47



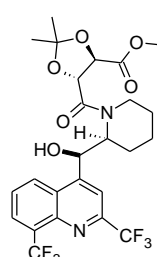
48



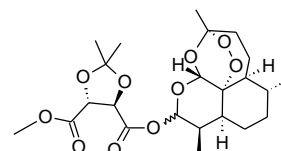
49



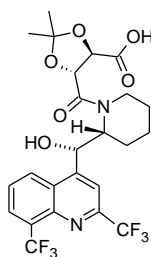
50



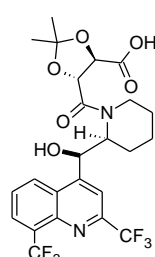
51



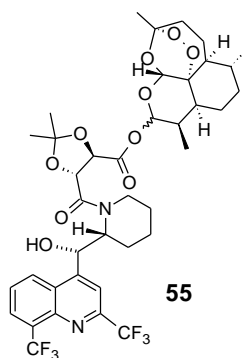
52



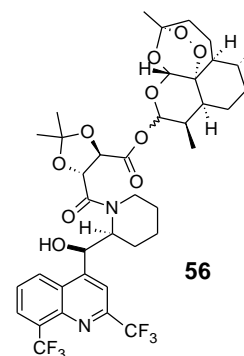
53



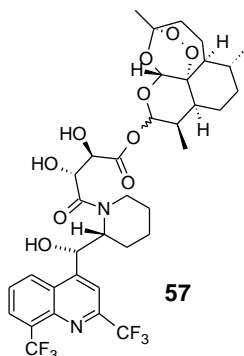
54



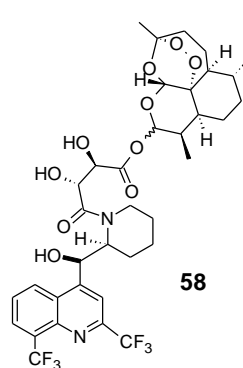
55



56



57



58

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1-LIGAÇÃO DO FERRO À ARTEMISININA, COM FORMAÇÃO DE ESPÉCIES RADICAIS	39
ESQUEMA 2- SÍNTESE E ESTRUTURA QUÍMICA DO MEFAS® (ARTESUNATO DE MEFLOQUINA)	52
ESQUEMA 3- ESQUEMA 3 – ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A OBTENÇÃO DOS DMLs 42 E 43	63
ESQUEMA 4- AMINAÇÃO REDUTIVA ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA E A D-GLUCOSE	64
ESQUEMA 5- SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15)	65
ESQUEMA 6- ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A SÍNTESE DOS DMLs 55, 56, 57 e 58	66
ESQUEMA 7- ESTERIFICAÇÃO DO ÁCIDO L-(+)-TARTÁRICO A DIMETIL (2R,3R)-2,3-DIHIDROXIBUTANODIATO	67
ESQUEMA 8- FORMAÇÃO DO COMPOSTO DIMETIL (4R,5R)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXILATO (46)	68
ESQUEMA 9- HIDRÓLISE DE 46 AOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS 47 E 48	69
ESQUEMA 10- FORMAÇÃO DOS COMPOSTOS 50 E 51	70
ESQUEMA 11- ASSOCIAÇÃO ENTRE A DIHIDROARTEMISININA E O ÁCIDO CARBOXÍLICO 48	71
ESQUEMA 12- OBTENÇÃO DOS DIASTEREISÔMEROS 53 E 54	72
ESQUEMA 13- OBTENÇÃO DOS DMLs 55 E 56	73
ESQUEMA 14- ESQUEMA 14 – ESQUEMA PARA A OBTENÇÃO DOS DMLs 57 E 58	73
ESQUEMA 15- PARÂMETROS GERAIS PARA A SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA	78
ESQUEMA 16- TENTATIVAS DE AMINAÇÃO REDUTIVA PARA FORMAÇÃO DO COMPOSTO 38	81
ESQUEMA 17- PARÂMETROS GERAIS NA SÍNTESE DO COMPOSTO 45	84
ESQUEMA 18- CONDIÇÕES GERAIS PARA A SÍNTESE DE 46	85
ESQUEMA 19- FORMAÇÃO DO COMPOSTO 49	89
ESQUEMA 20- ETAPAS DA REAÇÃO DE OBTENÇÃO DE 47	91

ESQUEMA 21- HIDRÓLISE PARCIAL DE 46 PARA A FORMAÇÃO DE 48 ...	95
ESQUEMA 22- REAÇÃO DE AMINÓLISE ESQUEMATIZADA ENTRE 25 , 26 E 46 PARA OBTENÇÃO DE 50 E 51	99
ESQUEMA 23- PARÂMETROS GERAIS PARA A FORMAÇÃO DE 50 E 51 A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE 25 , 26 E 48	104
ESQUEMA 24- MECANISMO PARA A FORMAÇÃO DE O-ACILISOUREIAS A PARTIR DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS E DCC (NEISES;STEGLICH, 1978)	105
ESQUEMA 25- OBTENÇÃO DE AMIDAS FRENTE À REAÇÃO ENTRE AMINAS E O-ACILISOUREIAS.....	106
ESQUEMA 26- MECANISMO PARA A ESTERIFICAÇÃO DE STEGLICH (NEISES;STEGLICH,1978)	107
ESQUEMA 27- POSSÍVEIS ARRANJOS CONFORMACIONAIS PARA UM DOS DIASTEREISÔMEROS OBTIDOS (50,51)	118
ESQUEMA 28- PARÂMETROS GERAIS PARA A FORMAÇÃO DE 52 A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE 15 E 48	120
ESQUEMA 29- PARÂMETROS GERAIS DE OBTENÇÃO DE 53 E 54	123
ESQUEMA 30- PARÂMETROS GERAIS DE OBTENÇÃO DE 54 e 55	125

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- CICLO BIOLÓGICO DO <i>Plasmodium</i> NO MOSQUITO E NO HOMEM.....	27
FIGURA 2- ALVOS FARMACOLÓGICOS DO CICLO BIOLÓGICO PARASITÁRIO.	29
FIGURA 3- ESTRUTURA QUÍMICA DA CLOROQUINA.	31
FIGURA 4- ESTRUTURA QUÍMICA DA PRIMAQUINA.....	32
FIGURA 5- PRINCIPAIS ANTIMALÁRICOS INIBIDORES DO FOLATO.....	34
FIGURA 6- ESTRUTURA QUÍMICA DA ATOVAQUONA.	35
FIGURA 7- ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA MALÁRIA.	36
FIGURA 8- ARTEMISININA E SEUS DERIVADOS.	38
FIGURA 9- EXEMPLO DE ALQUILAÇÃO DO HEME.....	40
FIGURA 10- ESTRUTURA QUÍMICA DO QUININO.....	42
FIGURA 11- ENANTIÔMEROS CONSTITUINTES DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA (LARIAM®):(+)ERITRO-MEFLOQUINA (25) E (-)- ERITRO-MEFLOQUINA (26).	43
FIGURA 12- AÇÃO DE UM FÁRMACO MONOFUNCIONAL E UM DML EM RECEPTORES-ALVO	47
FIGURA 13- ESTRATÉGIAS PARA OBTENÇÃO DE DMLs.....	48
FIGURA 14- ESTRUTURA QUÍMICA DO MEMOQUIN®	50
FIGURA 15- DML DE ARTEMISININA E QUININO SINTETIZADO POR WALSH <i>et al.</i> , 2007.....	52
FIGURA 16- COMPOSTO MULTIFUNCIONAL SINTETIZADO POR ARAÚJO <i>et al.</i> , 2009	53
FIGURA 17- FÁRMACOS HÍBRIDOS SINTETIZADOS POR CAPELA <i>et al.</i> , 2011.	54
FIGURA 18- DML 33 , SINTETIZADO POR GRELLEPOIS <i>et al.</i> , 2005.	54
FIGURA 19- DML COM <i>LINKER</i> DIÉSTER SINTETIZADO POR GRELLEPOIS <i>et al.</i> , 2005.....	55

FIGURA 20- COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS AVALIADOS POR LOMBARD <i>et al.</i> , 2012.....	57
FIGURA 21- ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA ARTEMISININA EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 ppm PELO PADRÃO TMS	75
FIGURA 22- ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA ARTEMISININA EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 ppm PELO PADRÃO TMS.	75
FIGURA 23- ESPECTRO DE INFRAVERMELHO ADQUIRIDO PARA A ARTEMISININA.....	76
FIGURA 24- ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA EM CDCl_3 A 30 °C, CALIBRADO EM 0 ppm PELO TMS	77
FIGURA 25- ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA DIHIDROARTEMISININA EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 ppm PELO TMS.	79
FIGURA 26- ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA DIHIDROARTEMISININA EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 ppm PELO TMS.	80
FIGURA 27- ESPECTRO DE INFRAVERMELHO ADQUIRIDO PARA A DIHIDROARTEMISININA.....	80
FIGURA 28- ESPECTRO DE RMN DE ^1H REFERENTE AO COMPOSTO 45 EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	85
FIGURA 29- ESPECTRO DE RMN DE ^1H REFERENTE AO COMPOSTO 46 EM CDCl_3 A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	88
FIGURA 30- ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C REFERENTE AO COMPOSTO 46 EM CDCl_3 A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.	88
FIGURA 31- ESPECTRO DE RMN DE ^1H REFERENTE AO COMPOSTO 49 EM CDCl_3 A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	90
FIGURA 32- ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C REFERENTE AO COMPOSTO 49 EM CDCl_3 A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	91
FIGURA 33- ESPECTRO DE RMN DE ^1H REFERENTE À CONDIÇÃO 12 PARA A HIDRÓLISE DO COMPOSTO 46 AO COMPOSTO 47 , ANTES DA PURIFICAÇÃO EM COLUNA. ESPECTRO OBTIDO EM CDCl_3 A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	94

FIGURA 34- ESPECTRO DE RMN DE ^1H REFERENTE AO PRODUTO REACIONAL DE HIDRÓLISE PARCIAL DO COMPOSTO 46 AO COMPOSTO 48 , APÓS PURIFICAÇÃO POR MÉTODOS EXTRATIVOS. ESPECTRO OBTIDO EM CDCl_3 A 30°C , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	96
FIGURA 35- ESPECTRO OBTIDO EM CDCl_3 PARA O COMPOSTO 48 , A 30°C , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	97
FIGURA 36- ESPECTRO DE RMN DE ^1H REFERENTE AO PRODUTO DE COLUNA CROMATOGRÁFICA DA CONDIÇÃO 11 DA TABELA 06. ESPECTRO OBTIDO EM CDCl_3 A 30°C , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	104
FIGURA 37- ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AOS PRODUTOS 50 E 51	108
FIGURA 38- ESPECTRO DE RMN – HSQC PARA A MISTURA DIASTEREOISOMÉRICA 50 E 51 , EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	110
FIGURA 39- ESPECTRO DE RMN – HMBC PARA A MISTURA DIASTEREOISOMÉRICA 50 E 51 , EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	111
FIGURA 40- ESPECTRO DE RMN DE ^1H PARA A MISTURA DIASTEREOISOMÉRICA 50 E 51 , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS	112
FIGURA 41- PADRÃO DE DESDOBRAMENTO DO SINAL REFERENTE AO HIDROGÊNIO DE NUMERAÇÃO 8' PARA OS COMPOSTOS 50 E 51 FRENTE AO SINAL DO HIDROGÊNIO ANÁLOGO DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA	115
FIGURA 42- PADRÃO DE DESDOBRAMENTO DO SINAL REFERENTE AO HIDROGÊNIO DE NUMERAÇÃO 3' PARA OS COMPOSTOS 50 E 51 FRENTE AO SINAL DO HIDROGÊNIO ANÁLOGO DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA	116
FIGURA 43- PADRÃO DE DESDOBRAMENTO DO SINAL REFERENTE AOS HIDROGÊNIOS DE NUMERAÇÃO 4 E 5, PARA OS COMPOSTOS 50 E 51	118

FIGURA 44- POSSÍVEIS FATORES INFLUENTES SOBRE O ESTADO CONFORMACIONAL DE 50 E 51	119
FIGURA 45- SINAIS REFERENTES AOS HIDROGÊNIOS DA METILA 11, PARA OS COMPOSTOS 50 E 51	119
FIGURA 46- ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO 52	122
FIGURA 47- ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE À RELAÇÃO MASSA/CARGA PARA OS PRODUTOS 53 E 54	124
FIGURA 48- ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO DA REAÇÃO ENTRE 53 E 54 COM 15 , COM DESTAQUE AO PICO DE RELAÇÃO M/Z = 816 Da	127
FIGURA 49- ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO DA REAÇÃO ENTRE 53 E 54 COM 15 , COM DESTAQUE AOS PICOS DE RELAÇÃO M/Z = 766 Da E M/Z = 840 Da	128
FIGURA 50- ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO DA REAÇÃO ENTRE 53 E 54 COM 15 , COM DESTAQUE AOS PICOS DE RELAÇÃO M/Z = 439 Da E M/Z = 551 Da	129

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- CONDIÇÕES SINTÉTICAS INICIAIS TENTADAS PARA A REAÇÃO DE AMINAÇÃO REDUTIVA.	82
TABELA 2- ADAPTAÇÕES DAS CONDIÇÕES DESCRITAS POR MAGID <i>et al.</i> PARA A REAÇÃO DE AMINAÇÃO REDUTIVA.	83
TABELA 3- CONDIÇÕES SINTÉTICAS UTILIZADAS PARA A SÍNTESE DO DERIVADO 46	86
TABELA 4- CONDIÇÕES SINTÉTICAS AVALIADAS PARA A SÍNTESE DO DERIVADO 47	92
TABELA 5- CONDIÇÕES AVALIADAS PARA AMINÓLISE ENTRE O DERIVADO 46 E MEFLOQUINA·HCl EM PIRIDINA COMO SISTEMA-SOLVENTE.	100
TABELA 6- CONDIÇÕES AVALIADAS PARA TENTATIVAS DE AMINÓLISE ENTRE O DERIVADO 46 E MEFLOQUINA·HCl UTILIZANDO HIDRETOS METÁLICOS.	102
TABELA 7- CONDIÇÕES AVALIADAS PARA REAÇÕES DE AMIDAÇÃO ENTRE 25 , 26 E O DERIVADO 48	105
TABELA 8- PADRÃO DE DESLOCAMENTO QUÍMICO DE ¹ H E ¹³ C PARA A MISTURA 50 E 51	113

LISTA DE SIGLAS

ACT – Terapia combinada com artemisininas

ART – Artemisinina(s)

CCD – Cromatografia em camada delgada

CDC – Centro de controle de doenças

DCC – Diciclohexilcarbodiimida

DML – *Designed multiple ligand*

DMAP – 4-*N,N*-dimetilaminopiridina

DMP – Dimetoxipropano

HCCA – Ácido α -ciano-4-hidroxicinamínico

HMBC – *Heteronuclear multiple bond correlation*

HSQC – *Heteronuclear single-quantum correlation*

IC₅₀ – Concentração inibitória de 50%

IV – Infravermelho

M – Concentração molar (mol/L)

m/z – Relação massa/carga

MALDI-TOF – *Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry*

OMS – Organização Mundial de Saúde

Rf – *Rate factor* (Relação de fluxo para CCD)

RMN – Ressonância magnética nuclear

TEA – Trietilamina

TMS – Tetrametilsilano

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
3.1. MALÁRIA.....	26
3.2. FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS	28
3.2.1. PRINCÍPIOS GERAIS	28
3.2.2. 4-AMINOQUINOLINAS	30
3.2.3. 8-AMINOQUINOLINAS	31
3.2.4. INIBIDORES DO FOLATO	32
3.2.5. INIBIDORES DA CADEIA RESPIRATÓRIA	33
3.2.6. ANTIBIÓTICOS	34
3.2.7. ARTEMISININAS.....	36
3.2.8. ARILAMINOALCOÓIS.....	40
3.3. TERAPIA COMBINADA COM BASE EM ARTEMISININAS (ACT)....	42
3.4. FÁRMACOS MULTIFUNCIONAIS.....	43
3.4.1. PRINCÍPIO DE AÇÃO E NOMENCLATURA	43
3.4.2. ESTRATÉGIAS PARA A OBTENÇÃO DE DMLs	45
3.4.3. DESAFIOS NO DESENVOLVIMENTO DE DMLs	46
3.4.4. USO E VANTAGENS DO USO DE DMLs NO TRATAMENTO DE DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS	47
3.4.5. ESTUDOS DE OBTENÇÃO DE DMLs PARA O TRATAMENTO DA MALÁRIA.....	48
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	54
4.1. MATERIAL UTILIZADO	54

4.2.	MÉTODOS GERAIS	54
4.2.2.2	Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)	56
4.2.2.3	Espectrometria de massas (MS)	56
4.2.2.4	Síntese orgânica	57
4.3.	ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A SÍNTESE DE DMLs ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA E A DIHIDROARTEMISININA UTILIZANDO A D-GLUCOSE COMO GRUPO CONECTOR	58
4.4.	TENTATIVAS DE REAÇÕES DE AMINAÇÃO REDUTIVA ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA E A D-GLUCOSE	59
4.5.	SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15).....	57
4.6.	ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA OBTENÇÃO DE DMLs ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA E A DIHIDROARTEMISININA UTILIZANDO O ÁCIDO TARTÁRICO COMO GRUPO CONECTOR	62
4.7.	SÍNTESE DO DIMETIL (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-DIHIIDROXIBUTANODIATO (45)	63
4.8.	SÍNTESE DO DIMETIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXILATO (46)	64
4.9.	SÍNTESE DO ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXÍLICO (47) E DO ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(METOXCARBONIL)-2,2 DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (48) A PARTIR DA HIDRÓLISE DE 46	65
4.10.	SÍNTESE DOS DIASTEREISÔMEROS METIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2,8-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4-IL][(2 <i>R</i>)-PIPERIDIN-2-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO (50); E METIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2,8-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4-IL][(2 <i>S</i>)-PIPERIDIN-2-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO (51).....	66
4.11.	REAÇÕES DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA AO COMPOSTO 48	67
4.12.	SÍNTESE DO ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2' <i>R</i>)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (53); E DO ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2' <i>S</i>)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (54).....	68
4.13.	REAÇÕES DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA A 53 E 54 PARA FORMAÇÃO DE COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS	69
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	70
5.1.	CARACTERIZAÇÃO DA ARTEMISININA.....	70

5.2.	CARACTERIZAÇÃO DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA	72
5.3.	SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15) (Esquema 15)	73
5.4.	TENTATIVAS DE AMINAÇÃO REDUTIVA PARA FORMAÇÃO DO COMPOSTO 38 (Esquema 16)	76
5.5.	SÍNTESE DO DIMETIL (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-DIHIIDROXIBUTANODIATO (45)	78
5.6.	SÍNTESE DO DIMETIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXILATO (46)	79
5.7.	SÍNTESE DO ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-(METOXCARBONIL)-2,2 DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (48)	83
5.8.	SÍNTESE DOS DIASTEREISÔMEROS METIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL][(2' <i>R</i>)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO (50); E METIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL][(2' <i>S</i>)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO (51)	93
5.9.	REAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA AO COMPOSTO 48	112
5.10.	SÍNTESE DO ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2' <i>R</i>)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (53); E DO ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2' <i>S</i>)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (54)	113
5.11.	REAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA A 53 E 54 PARA FORMAÇÃO DE COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS	115
6.	CONCLUSÃO	119
7.	REFERÊNCIAS	121
	ANEXO 1: SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15)	141
	ANEXO 2: SÍNTESE DO DIMETIL (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-DIHIIDROXIBUTANODIATO (45)	142
	ANEXO 3: SÍNTESE DE 46 A PARTIR DE 45	143
	ANEXO 4: SÍNTESE DE 47 E 48 A PARTIR DE 46	144
	ANEXO 5: SÍNTESE DA MISTURA DE DIASTEREISÔMEROS METIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL][(2' <i>R</i>)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO (50); E METIL (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL][(2' <i>S</i>)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO (51)	145

ANEXO 6: REAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA AO COMPOSTO 48	148
ANEXO 7: SÍNTESE DA MISTURA DE ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2' <i>R</i>)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (53); E ÁCIDO (4 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2' <i>S</i>)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (54).....	146
ANEXO 8: REAÇÃO ENTRE 53 E 54 COM A DIHIDROARTEMISININA 15 .	147

1. INTRODUÇÃO

Relatos acerca dos sintomas característicos da doença datam da era pré-Cristã, mas apenas no século XIX o termo “malária” foi utilizado pela primeira vez. Derivada da expressão “mal aria” (“mau ar”), a denominação foi fruto da hipótese de que vapores nocivos denominados miasmas eram os responsáveis pela transmissão da patologia. Foi somente a partir de 1880, contudo, que os estudos acerca da malária, juntamente a seus mecanismos de transmissão, começaram a ser elucidados (HEMPELMANN; KRAFTS, 2013).

A despeito deste longo histórico existencial, a malária continua a ser uma doença muito incidente no contexto mundial, presente em 104 países, e colocando cerca de 3,4 bilhões de pessoas em risco no ano de 2013. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) referentes a 2012 descrevem aproximadamente 207 milhões de casos relatados, com valores próximos a 627 mil mortes.

Mundialmente, a malária é uma parasitose que acomete principalmente áreas precárias de regiões tropicais e subtropicais. Dentre esses casos, a maioria concentra-se na África, e o restante se distribui pelo sudeste da Ásia, ilhas da Oceania e América do Sul. No Brasil há incidência majoritária na região amazônica (OMS, 2013).

Das mais de 100 espécies de parasitas pertencentes ao gênero *Plasmodium*, apenas cinco são conhecidamente causadoras de malária em seres humanos (CDC, 2012). A infecção pode gerar casos assintomáticos, passando por quadros leves, podendo gerar sintomas severos e, inclusive, morte (CDC, 2010).

Os casos clássicos da doença são usualmente tratados com o uso de artemisinina e derivados, fármacos conhecidamente eficazes no tratamento da malária. No organismo, esses compostos são metabolizados a dihidroartemisininas, os principais responsáveis pelo efeito farmacológico. Esses metabólitos são rapidamente excretados, resultando em tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) curtos (KRISHNA *et al.*, 2004). Embora essa rápida metabolização apresente como vantagem a menor possibilidade de resquícios de patógenos resistentes, o uso de artemisininas em

monoterapia apresenta a desvantagem de ser associado a riscos de recrudescência (GRELLEPOIS *et al.*, 2005).

O tratamento medicamentoso indicado pela OMS preconiza a terapia combinada baseada em artemisininas (ACTs), que consiste na associação dessa classe de medicamentos a outras classes de antimaláricos. O artesunato é o principal fármaco derivado da artemisinina utilizado nas terapias combinadas, sendo comumente associado à mefloquina (SCHÜTZENMEISTER *et al.*, 2013).

O princípio da associação de diferentes medicamentos na ACT, contudo, pode gerar complicações decorrentes da associação de diferentes medicamentos, intensificando fatores como a taxa de efeitos colaterais, toxicidade e interações medicamentosas. Frente a esses problemas, o desenvolvimento de compostos multifuncionais (DMLs) passou a ser estudado. Tais fármacos consistem em espécies químicas com múltiplos alvos de ação farmacológica (ROSINI *et al.*, 2008; PARASURAMAN *et al.*, 2014).

Trabalhos já realizados apresentaram evidências das vantagens do uso de compostos multifuncionais no tratamento da malária, verificando-se em muitos casos melhoras nos parâmetros físico-químicos e farmacológicos das substâncias sintetizadas, proporcionando maior adesão terapêutica (CAVALLI *et al.*, 2008).

O presente estudo tem como foco de pesquisa a síntese de compostos multifuncionais de artemisinina-mefloquina, utilizando monossacarídeos e ácidos aldáricos como grupos conectores, visando às potenciais vantagens farmacológicas de seu uso, tais como a otimização de sua solubilidade nos meios aquosos do sistema biológico, a resolução quiral de intermediários diastereoisoméricos e melhora geral de efeitos terapêuticos.

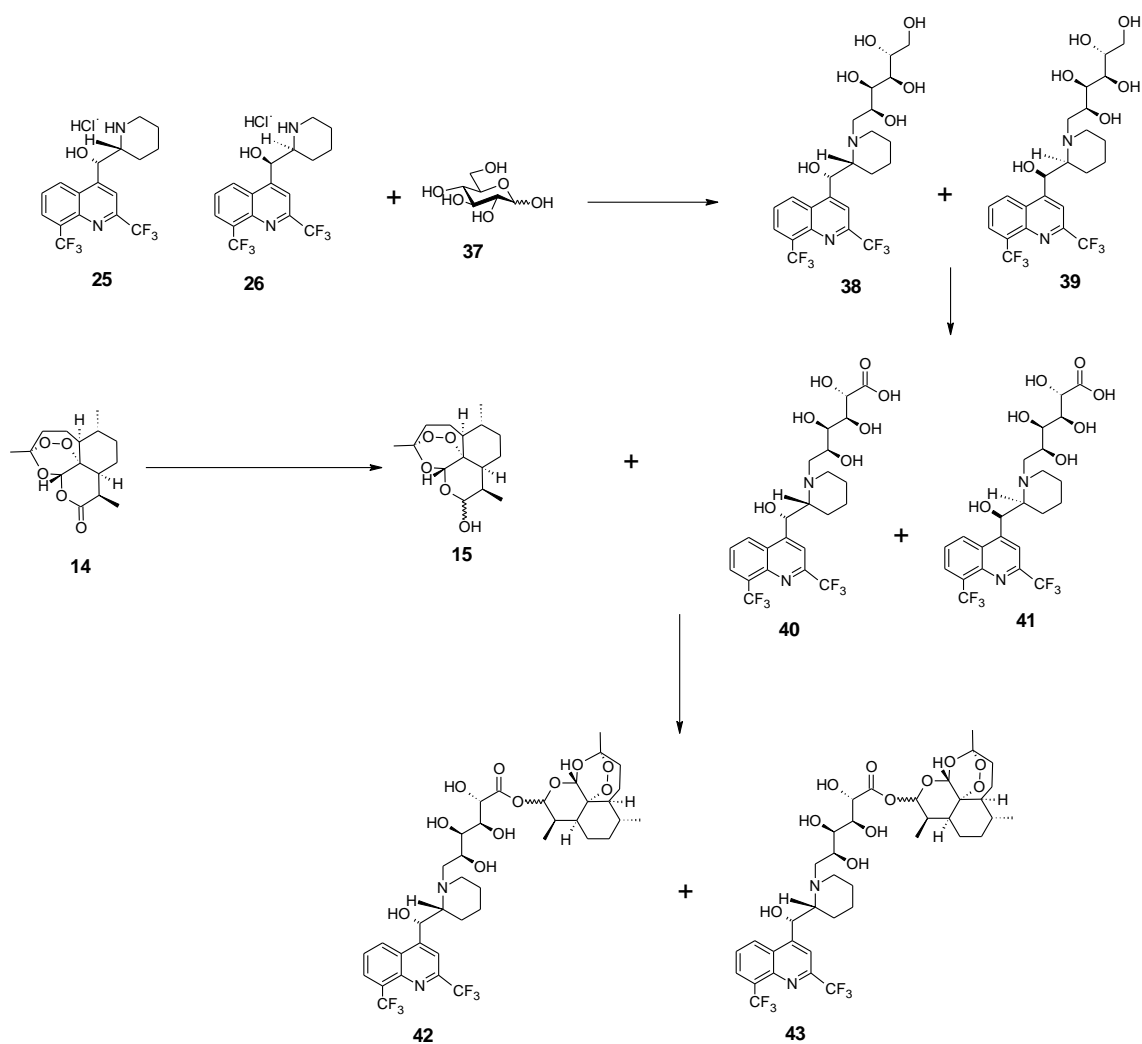
2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a utilização de um monossacarídeo (D-glucose) e um ácido aldárico (ácido L-(+)-tartárico) na preparação de grupos conectores para a síntese de DMLs de artemisinina-mefloquina.

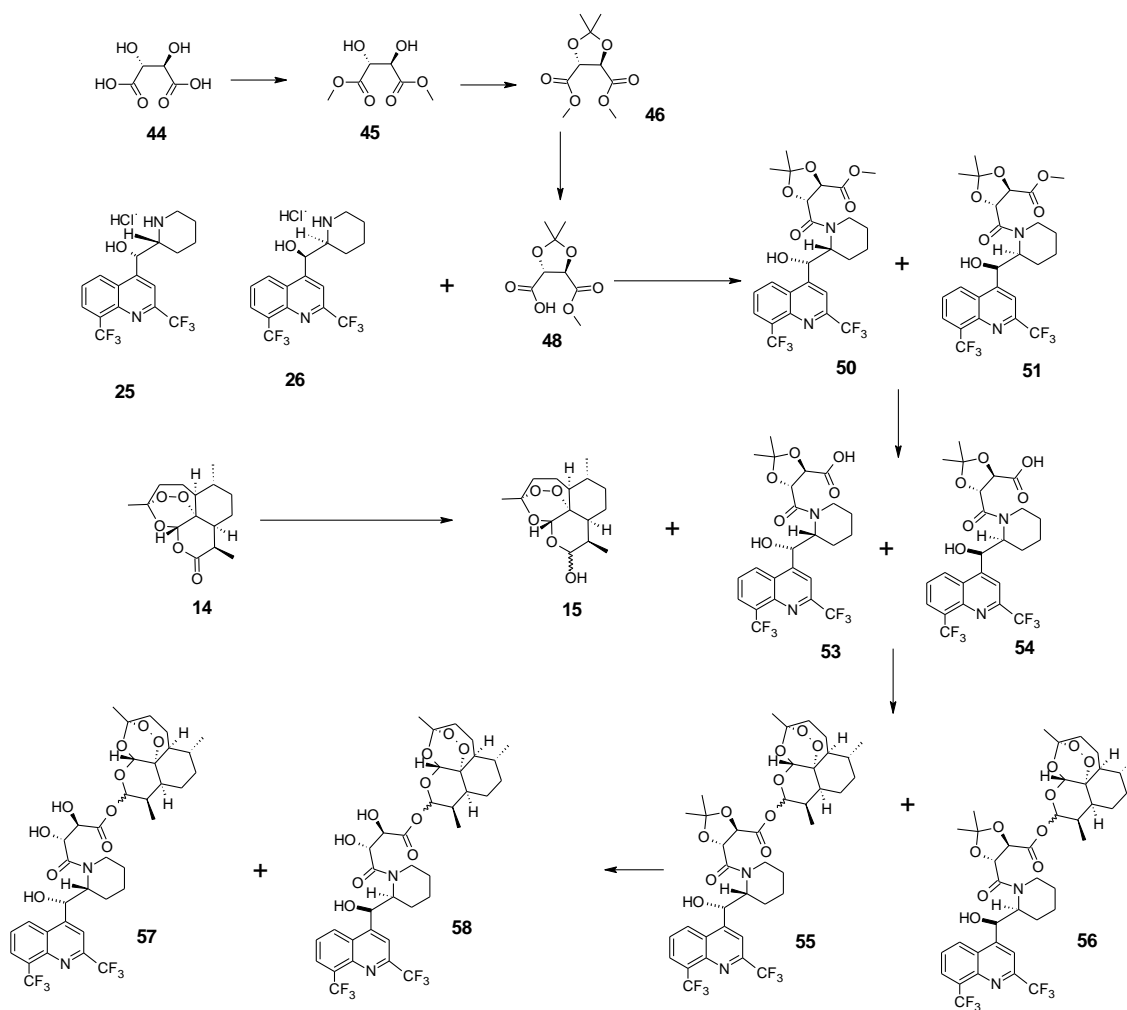
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a utilização da D-glucose (**37**) como grupo conector na obtenção de um DML artemisinina-mefloquina (Esquema 1) através de:
 - Aaminação redutiva entre o grupo amino piperidínico secundário do cloridrato de mefloquina (**25,26**) e a D-glucose (**37**)
 - Oxidação seletiva da hidroxila primária dos derivados mefloquina-monossacarídeo (**38,39**) para a forma de ácido carboxílico (**40 e 41**)
 - Redução do grupo lactona da artemisinina (**14**) para obtenção da dihidroartemisinina (**15**)
 - Reação entre a dihidroartemisinina e os derivados mefloquina-monossacarídeo carboxilados para a obtenção de uma mistura de DMLs (**42 e 43**)



ESQUEMA 1 - ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A UTILIZAÇÃO DA D-GLUCOSE COMO *LINKER*.

- Avaliar a utilização do ácido (L)-(+)-tartárico (**44**) como grupo conector na obtenção de DMLs artemisinina-mefloquina (Esquema 2) através da:
 - Obtenção do (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroxibutanodiato de dimetila (**45**)
 - Proteção das hidroxilas de **45** na forma do cetal (4*R*,5*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4,5-dicarboxilato de dimetila (**46**).
 - Hidrólise parcial de **46**, obtendo o ácido (4*R*,5*R*)-5-(metoxicarbonil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-carboxílico (**48**).
 - Reação de amidação entre os enantiômeros constituintes do cloridrato de mefloquina e o *linker* **48**, formando os compostos **50** e **51**.
 - Associação da dihidroartemisinina à mistura diastereoisomérica de **53** e **54**, obtendo-se os antimaláricos multifuncionais visados.
 - Paralelamente, avaliar a viabilidade da reação de esterificação entre a dihidroartemisinina e o ácido carboxílico **48**.



ESQUEMA 2 - ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A UTILIZAÇÃO DO ÁCIDO L-(+)-TARTÁRICO COMO *LINKER*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. MALÁRIA

São conhecidas mais de 100 espécies de protozoários pertencentes ao gênero *Plasmodium*, os quais causam doenças em aves, répteis e mamíferos. As infecções em seres humanos, contudo, são conhecidamente causadas por cinco espécies: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malarie* e *P. knowlesi*. (CDC, 2012).

Os casos de malária severa são causados principalmente por *P. falciparum*, com predominância no continente africano. Na América Latina, a doença está principalmente associada ao *P. vivax* (OMS, 2013).

O ciclo biológico do parasita (FIGURA 1) se inicia com a transmissão por meio da inoculação de esporozoítos presentes nas glândulas salivares das fêmeas contaminadas de mosquitos do gênero *Anopheles*. Após um curto tempo de permanência sob a pele do hospedeiro humano, os esporozoítos alcançam a circulação. Dotados de motilidade e capacidade de adentrar diferentes tipos celulares do hospedeiro, os parasitas alcançam o fígado, infectando os hepatócitos (ciclo pré-eritrocítico). Dentro dessas células há diferenciação dos esporozoítos a trofozoítos pré-eritrocíticos, os quais dão origem a esquizontes hepáticos por meio de reprodução assexuada. Os esquizontes, por sua vez, originam os merozoítos, que rompem os hepatócitos em sua eclosão (BRAGA *et al.*, 2010).

Os merozoítos formados infectam os eritrócitos (ciclo eritrocítico), realizando multiplicação e dando origem a outros merozoítos. Dentre estes, a grande maioria invade novos eritrócitos, enquanto uma parcela diferencia-se em gametócitos masculinos e gametócitos femininos (microgametócitos e macrogametócitos, respectivamente). As formas sexuais diferenciadas permanecem no sangue circulante, sendo eventualmente ingeridas por uma fêmea de mosquito *Anopheles* durante o repasto sanguíneo. No intestino delgado do inseto ocorre a formação de microgametas, que, fecundando os macrogametas, formam oocinetos (ciclo

esporogônico). Estes, por sua vez, atravessam a parede intestinal, formando oocistos. Os oocistos, por meio de esporogonia, multiplicam-se e rompem-se, promovendo a liberação de esporozoítos, os quais atingem as glândulas salivares do mosquito, podendo ser injetados em um novo hospedeiro humano (FRANÇA *et al.*, 2008).

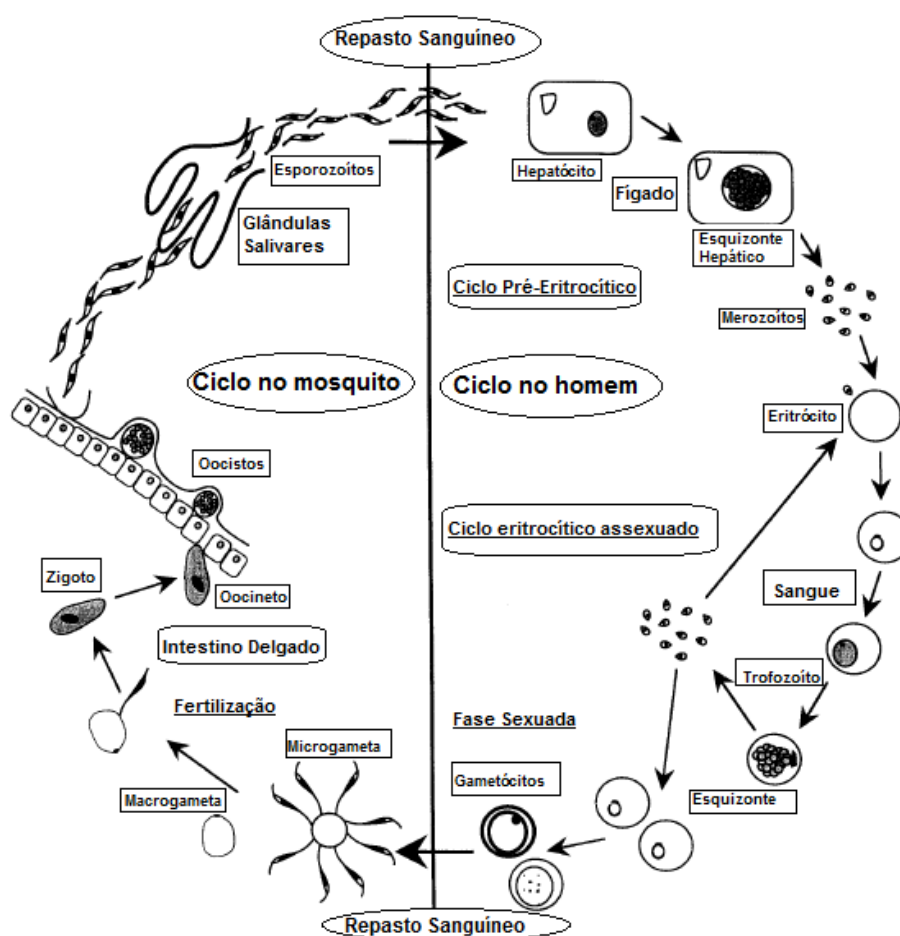


FIGURA 1 - CICLO BIOLÓGICO DO *Plasmodium* NO MOSQUITO E NO HOMEM.
(ADAPTADO DE PHILLIPS, 2001).

Enquanto dentro das hemácias, os parasitas degradam as moléculas de hemoglobina em seu vacúolo digestivo, utilizando-as como fonte de aminoácidos e peptídeos. O grupo heme liberado nesse processo é oxidado a hematina (hemina), que apresenta potencial tóxico aos protozoários (CAPELA, 2011). De acordo com

EGAN *et al.*, (2002), a detoxificação da hematina se dá majoritariamente na infecção por *P. falciparum*, por meio de sua conversão a hemozoína (β -hematina). Essa substância, juntamente a determinados metabólitos glicolipídicos dos parasitas, possuem a capacidade de induzir a liberação de citocinas como interleucinas do tipo IL-1, IL-6 e IL-8, e fator de necrose tumoral TNF- α por células imunocompetentes e endoteliais (BRAGA *et al.*, 2010). Tais substâncias, principalmente o TNF- α , são responsáveis por ações tóxicas, as quais geram como consequências como a elevação de temperatura no organismo humano (RANG *et al.*, 2003).

3.2. FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

3.2.1. PRINCÍPIOS GERAIS

RANG e colaboradores (2004) descrevem que terapias antimaláricas distintas são aplicadas para diferentes situações do ciclo biológico parasitário (FIGURA 2). Quanto à finalidade do tratamento, os antimaláricos podem ser classificados em:

- Fármacos para o tratamento de ataques agudos.
- Fármacos utilizados na quimioprofilaxia da doença.
- Fármacos de cura radical.
- Fármacos para a prevenção da transmissão.

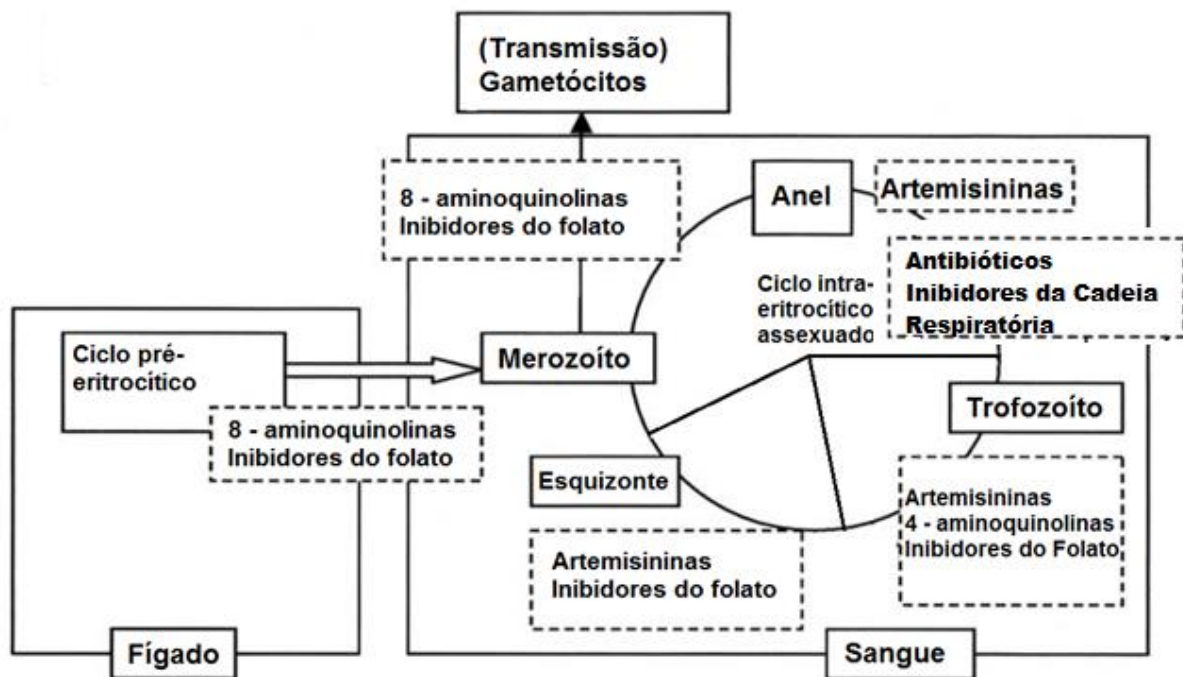


FIGURA 2 - ALVOS FARMACOLÓGICOS DO CICLO BIOLÓGICO PARASITÁRIO.

(FONTE: ADAPTADO DE O'NEILL *et al.*, 2006.

Diversas classes químicas de fármacos antimaláricos podem ser utilizadas em mais de uma situação parasitária. Conforme descrito por SCHLITZER (2008), quimicamente, os principais fármacos antimaláricos podem ser classificados em:

- 4-Aminoquinolinas.
- 8-Aminoquinolinas.
- Inibidores do folato.
- Inibidores da cadeia respiratória.
- Antibióticos.
- Artemisininas.
- Arilaminoalcoois.

3.2.2. 4-AMINOQUINOLINAS

Em função de sua alta eficácia, segurança e baixo custo, as 4-aminoquinolinas foram por muito tempo a primeira escolha no tratamento da malária. A primeira molécula sintetizada pertencente a essa classe foi a cloroquina (**1**) (CQ-FIGURA 3). Seu uso em monoterapia foi bastante difundido no tratamento da malária, sem verificação de resistência até a década de 1960 (SCHLITZER, 2008).

As 4-Aminoquinolinas têm a capacidade de acumularem-se no interior dos vacúolos digestivos dos plasmódios, o que parece ser explicado por suas propriedades físico-químicas. Em suas formas não protonadas, atravessam com facilidade as membranas biológicas da hemácia e do parasita, adentrando o vacúolo digestivo. O baixo pH do vacúolo as converte em suas formas protonadas, as quais não podem difundir-se através de membranas, permanecendo confinadas no ambiente vacuolar (O'NEILL *et al.*, 2006).

O princípio da ação farmacológica das 4-aminoquinolinas baseia-se em sua interação com o grupo heme liberado a partir da degradação da molécula de hemoglobina pelo parasita. Complexando-se ao heme livre no interior do vacúolo digestivo, as 4-aminoquinolinas impedem sua cristalização na forma de pigmento malárico (O'NEILL *et al.*, 1998).

O desenvolvimento de um mecanismo de efluxo de fármaco dos vacúolos digestivos implicou no surgimento de plasmódios resistentes às 4-aminoquinolinas. Expressa principalmente em *P. falciparum* e *P. vivax*, a resistência é mediada por uma proteína transportadora inespecífica denominada P-glicoproteína (RANG *et al.*, 2004).

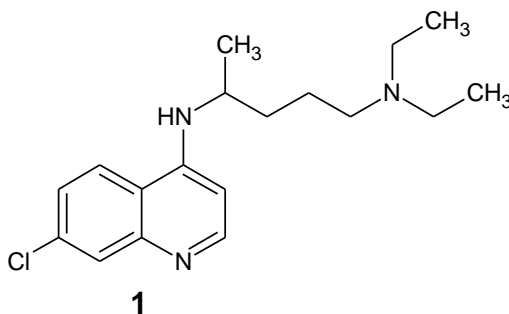


FIGURA 3 - ESTRUTURA QUÍMICA DA CLOROQUINA (GAMO, 2014).

3.2.3. 8-AMINOQUINOLINAS

As 8-aminoquinolinas estão associadas a diferentes tipos de tratamento da parasitose. Sua capacidade em destruir as formas parasitárias hepáticas antes do alcance da circulação permite o uso na profilaxia de infecções causadas por todas as espécies de plasmódios. A aplicação dessa classe de fármacos possui importância na destruição das formas hipnozoítas de *P. vivax* e *P. ovale*, prevenindo a reincidência da infecção. Quando combinadas a esquizotípicos sanguíneos para o tratamento da doença causada por essas duas espécies, as 8-aminoquinolinas contribuem para a chamada “cura radical” (HILL *et al.*, 2006).

A primaquina (**2**) (FIGURA 4) é o principal fármaco pertencente a essa classe, sendo o único fármaco reconhecidamente capaz de eliminar todos os estágios hepáticos do parasita. Sua administração é sempre associada a agentes esquizotípicos sanguíneos, como arteméter, lumefantrina e artesunato, visando à eliminação total do parasita (DEEPIKA *et al.*, 2011).

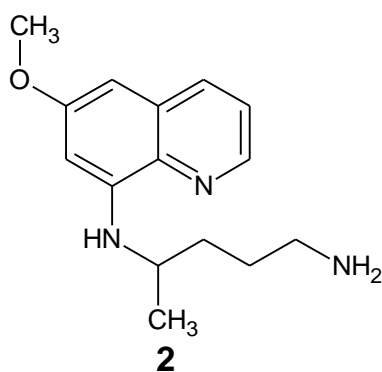


FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DA PRIMAQUINA.
(MYINT *et al.*, 2011).

Embora o mecanismo exato de ação da primaquina não seja totalmente elucidado (VALE *et al.*, 2009), supõe-se que alguns de seus efeitos sejam decorrentes de interferências sobre a estrutura do DNA parasitário (BASSO *et al.*,

2011), e sobre as membranas mitocondriais (BAIRD; RIECKMANN, 2003). Estudos realizados por BASSO e colaboradores (2011) indicaram que a primaquina pode interagir com fosfolipídios de membrana, interpondo-se entre suas porções polares, alterando seu padrão rotacional e de rearranjo.

3.2.4. INIBIDORES DO FOLATO

Substâncias como a sulfadoxina (**3**) e a dapsona (**4**) (Figura 5) agem como inibidores competitivos do ácido 4-aminobenzóico, e como falsos substratos da enzima dihidropteroato sintase (DHPS), importantes biomoléculas relacionadas à síntese do tetrahydrofolato (SCHLITZER, 2008; GAMO, 2014). Geralmente esses fármacos são utilizados em associação a inibidores da enzima dihydrofolato redutase (DHFR), o que acaba por alterar a síntese de metionina e pirimidina, contribuindo para a morte do parasita. Fármacos como a pirimetamina (**6**) e o cicloguanil (**7**) (metabólito ativo do proguanil **5**) não só inibem a DHFR, como podem exercer indução de estresse oxidativo em *Plasmodium* (SIRAWARAPORN, 1998; O'NEILL *et al.*, 2006; HERRERA *et al.*, 2010).

A inibição da síntese do folato interfere em importantes processos bioquímicos do parasita, podendo alterar a síntese de DNA, a transcrição gênica e metilação de material genético e proteínas (MÜLLER; HYDE, 2013). A administração de antifolatos, portanto, não se limita à malária, podendo ser usados em infecções causadas por algumas espécies de *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Pneumocystis* e *Toxoplasma* (GOODEY *et al.*, 2011).

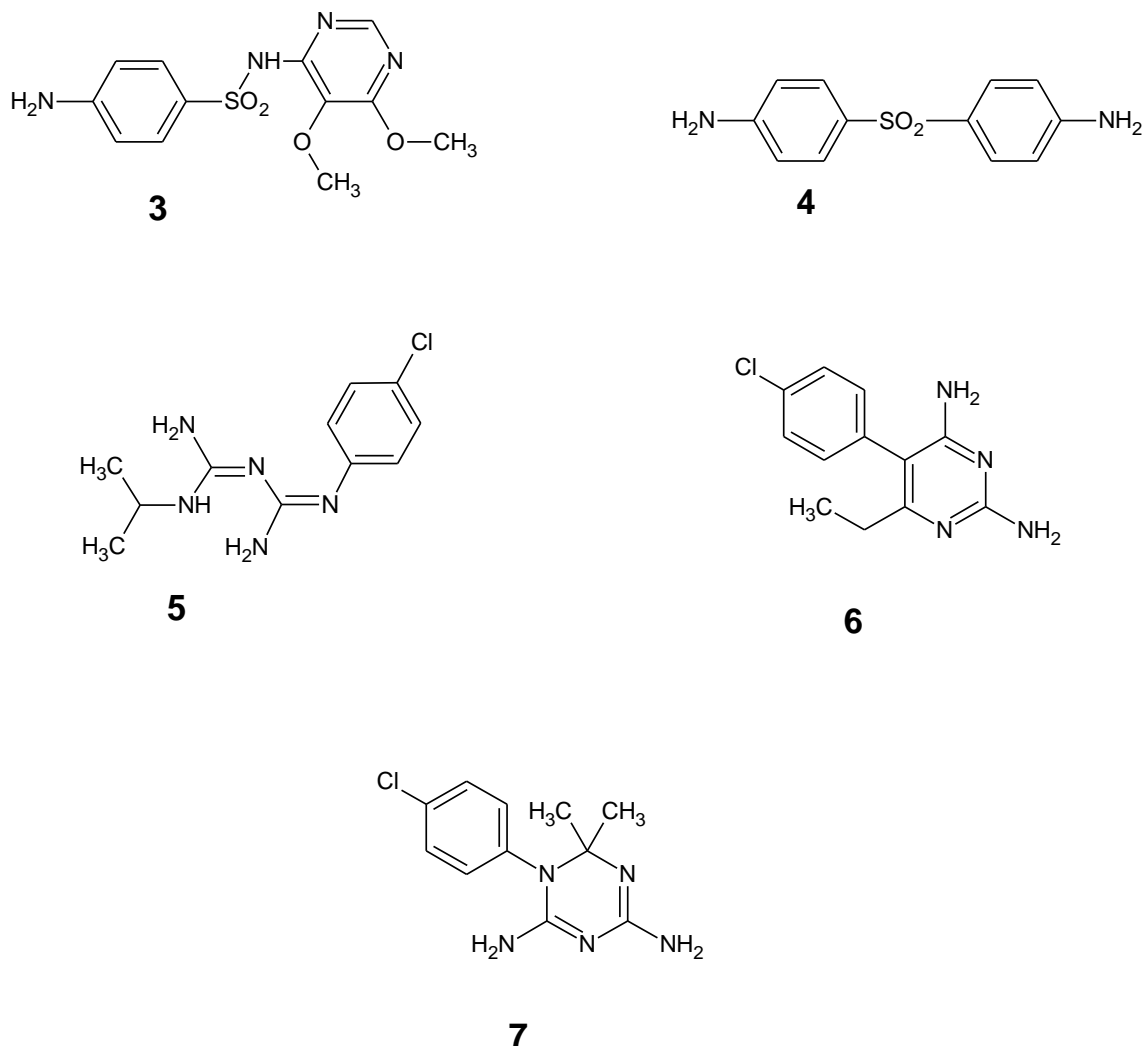


FIGURA 5 - ANTIMALÁRICOS INIBIDORES DO FOLATO: SULFADOXINA (3), DAPSONA (4), PROGUANIL (5), PIRIMETAMINA (6), CICLOGUANIL (7).

(ADAPTADO DE LEITE *et al.*, 2013; DIAS *et al.*, 2014).

3.2.5. INIBIDORES DA CADEIA RESPIRATÓRIA

A atovaquona (8) (FIGURA 6) é uma naftoquinona que atua sobre o ubiquinol, porção componente do complexo citocromo bc_1 das mitocôndrias. A inibição do complexo resulta em alteração do funcionamento da cadeia transportadora de elétrons, acarretando em perda da função mitocondrial. Para o *Plasmodium*, as mitocôndrias exercem papel fundamental na síntese das piridiminas, principalmente durante seu ciclo eritrocítico (NIXON *et al.*, 2013).

O uso de atovaquona no tratamento da malária é frequentemente associado ao proguanil, em consequência do desenvolvimento de mecanismos de resistência,

que impedem a estabilização da ligação da naftoquinona ao ubiquinol (BARTON *et al.*, 2010). Ambos os fármacos agem sinergicamente, e seu uso é aplicado em tratamento e profilaxia da doença (LÜTGENDORF *et al.*, 2006). O tratamento com proguanil, contudo, apresentou falhas em testes clínicos, o que limitou a extensão de seu uso nos últimos anos (MURAMBIWA *et al.*, 2011).

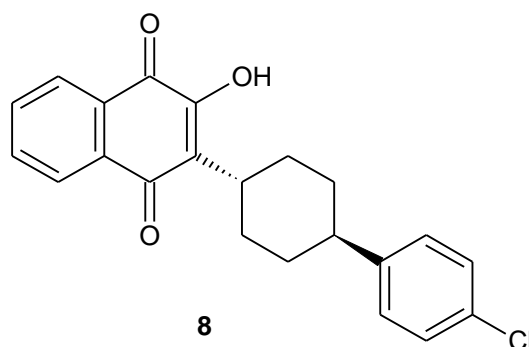


FIGURA 6 - ESTRUTURA QUÍMICA DA ATOVAQUONA.
(ADAPTADO DE BARTON *et al.*, 2010).

3.2.6. ANTIBIÓTICOS

O efeito antimalárico atribuído a alguns antibióticos apresenta relação com a interferência nas funções de uma organela plasmodial denominada apicoplasto. Tal organela multimembranosa dispõe de maquinaria e genes próprios, como as mitocôndrias e os cloroplastos, e sua função no parasita é associada à síntese do heme e de ácidos graxos, mas principalmente de precursores isoprenoides, durante o ciclo eritrocítico do parasita. A inativação das funções dos apicoplastos leva à destruição do protozoário em um mecanismo chamado “morte tardia”, o qual age majoritariamente sobre o segundo ciclo de replicação do plasmódio (GOODMAN; McFADDEN, 2013).

Diferentes classes de antibióticos apresentam mecanismos de ação que interferem na atividade dos apicoplastos. Fármacos como ciprofloxacino (**9**), rifampicina (**10**), clindamicina (**11**), doxiciclina (**12**) e cloranfenicol (**13**), quando administrados em combinação com antimaláricos de ação mais rápida, apresentaram bons resultados de eliminação parasitária, com baixos riscos de recrudescência (PRADEL; SCHLITZER, 2010).

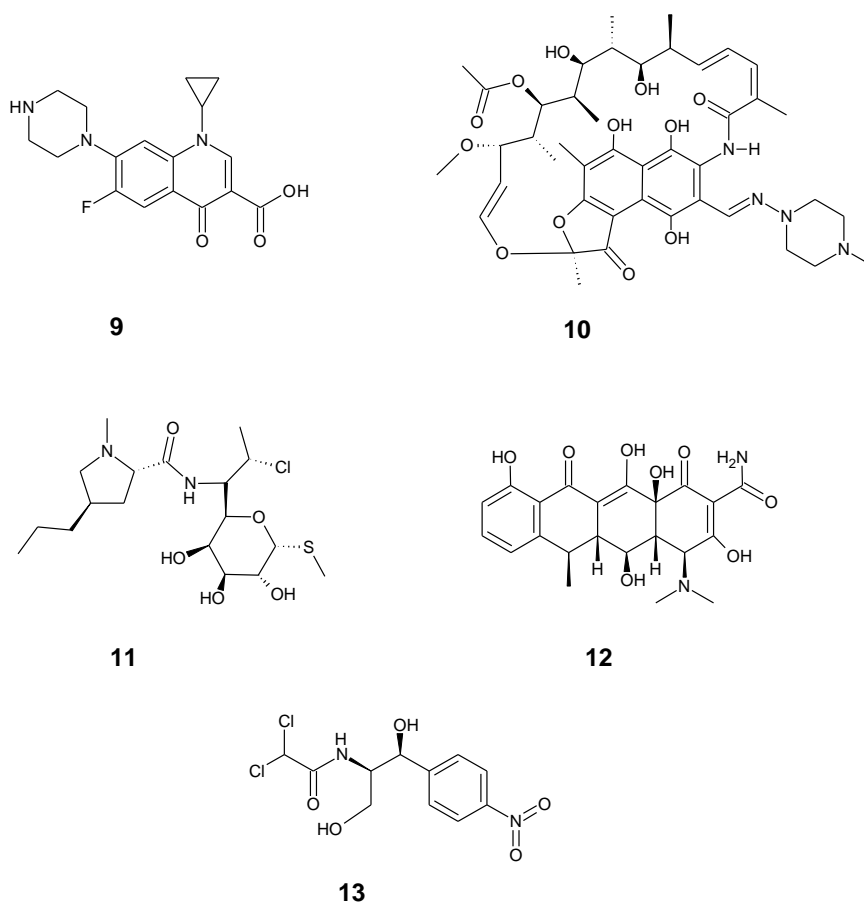


FIGURA 7 - ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA MALÁRIA: CIPROFLOXACINO (**9**), RIFAMPICINA (**10**), CLINDAMICINA (**11**), DOXICICLINA (**12**), CLORANFENICOL (**13**). (ADAPTADO DE PRADEL & SCHLITZER, 2010).

3.2.7. ARTEMISININAS

A artemisinina (**14**), também conhecida como Qinghaosu, é o componente extraído da planta chinesa *Artemisia annua* L. (Asteraceae) que apresenta ação antimalárica (RADULOVIC *et al.*, 2013). Sua estrutura química é constituída de uma lactona sesquiterpênica, com uma ponte endoperóxido essencial para a atividade farmacológica (DING *et al.*, 2011). Os estudos envolvendo o isolamento e caracterização da estrutura química da artemisinina pela cientista chinesa Youyou Tu, na década de 1970, lhe renderam o Prêmio Nobel de Fisiologia/Medicina no ano de 2015 (CAMPBELL *et al.*, 2015).

A partir de modificações estruturais na artemisinina foi possível a obtenção de derivados semissintéticos, denominados artemisininas ou ARTs, juntamente ao composto químico de origem (KLONIS *et al.*, 2013). Dentre os derivados da artemisinina com maior uso na terapêutica encontram-se o artesunato (**16**), o arteméter (**17**) e o arteéter (**18**). (HO *et al.*, 2014). No organismo, as ARTs são rapidamente metabolizadas à dihidroartemisinina (**15**), seu metabólito ativo, e principal responsável pela atividade (KRISHNA *et al.*, 2004). A artemisinina e seus derivados são apresentados na FIGURA 8.

Dentre as diferentes hipóteses postuladas para se esclarecer o mecanismo da ação das artemisininas, estudos realizados por HONG e colaboradores (1994) propuseram um modelo baseado em duas etapas: a primeira dependendo da clivagem redutiva da ligação endoperóxido, mediada por ferro hêmico reduzido ao estado ferroso, com a formação de radicais livres. A segunda etapa consiste na alquilação de proteínas parasitárias e do grupo heme pelos radicais gerados na etapa inicial. A alquilação do heme nas posições *meso* do esqueleto porfirínico causa o impedimento de sua detoxificação a hemozoína, contribuindo para a morte do protozoário.

Diversos estudos foram realizados na tentativa de se elucidar a ação do ferro na ativação das ARTs para alquilação do heme (ROBERT *et al.*, 2002; DING *et al.*, 2011). Um esquema apresentado por POSNER e O'NEILL (2004) descreveu a possibilidade de interação do ferro (II) hêmico com os átomos de oxigênio que

formam a ponte endoperóxido das ARTs. A ligação do ferro ao oxigênio 1 leva à formação de um radical de oxigênio (**19**), o qual passa por um rearranjo, gerando uma espécie radicalar de carbono primário (**20**). Caso a interação do ferro se dê com o oxigênio 2 da ART, o radical de oxigênio (**21**) sofre um rearranjo para formar uma espécie radicalar de carbono secundário (**22**) (ESQUEMA 1). Esses radicais, por sua vez, são responsáveis pela alquilação do heme (**23**) (FIGURA 9) nas posições *meso* α , β e γ (CAPELLA, 2011).

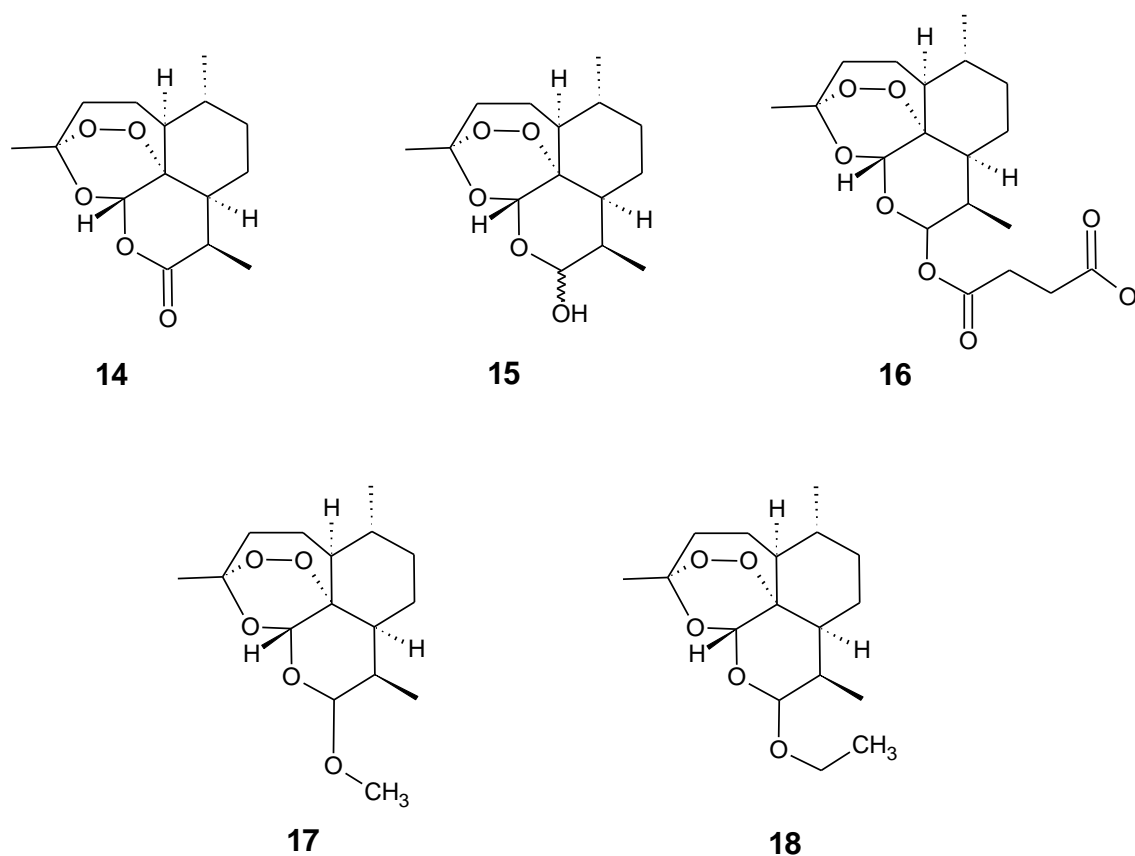
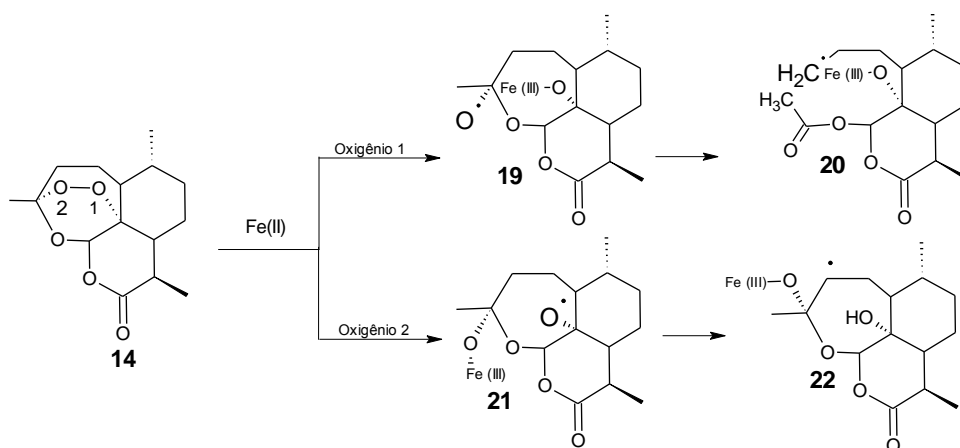


FIGURA 8 – ARTEMISININA (**14**) E SEUS DERIVADOS: DIHIDROARTEMISININA (**15**), ARTESUNATO (**16**), ARTEMÉTER (**17**), ARTEÉTER (**18**). (ADAPTADO DE HO *et al.*, 2014).

Além da hipótese de que o ferro(II) hêmico (proveniente da degradação da hemoglobina pelo plasmódio) possa atuar como ativador das ARTs a suas formas radiculares, existe também a possibilidade de que essa ativação seja promovida por íon ferroso livre, não associado à hemoglobina, oriundo de outros processos metabólicos do parasita (KLONIS *et al.*, 2013). Em um trabalho publicado em 2004, MESSORI e colaboradores constataram a ocorrência da ligação direta entre a artemisinina e o grupo heme em sua forma oxidada (hemina), sem a necessidade de ferro como agente redutor, sugerindo que a alquilação independe da ativação das ARTs a formas radiculares.



ESQUEMA 3 - LIGAÇÃO DO FERRO À ARTEMISININA, COM FORMAÇÃO DE ESPÉCIES RADICALES.

(ADAPTADO DE CAPELLA, 2011).

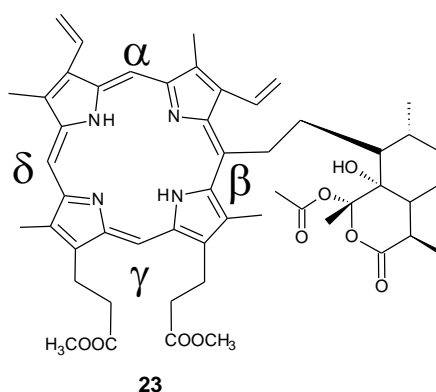


FIGURA 9 - EXEMPLO DE ALQUILAÇÃO DO HEME.

(ADAPTADO DE O'NEILL *et al.*, 2010).

Conforme dados compilados por HAYNES e colaboradores (2007), outras hipóteses acerca do mecanismo de ação das artemisininas foram propostas. Uma delas é a inibição de uma classe de enzimas plasmodiais denominadas SERCA (retículo sarco-endoplasmático Ca^{2+} ATPase), sem haver a formação de radicais livres de carbono. A acepção de elétrons pelo sítio farmacofórico das artemisininas resultaria na formação de espécies como o radical hidroxila, com capacidade de reagir com substratos celulares. Um estudo realizado por WANG e colaboradores (2010) apresentou evidências da ação específica das artemisininas sobre as membranas mitocondriais, estimulando sua despolarização, com interferência no funcionamento da cadeia transportadora de elétrons.

Apesar de não se saber com exatidão seu mecanismo de ação, as artemisininas estão entre os fármacos antimaláricos mais utilizados atualmente, sendo a base do tratamento preconizado pela OMS (2013). Seu uso é associado a uma série de fatores que propiciam uma alta taxa de morte parasitária, tais como seu curto tempo de meia-vida (próximo a 60 minutos) (KRISHNA *et al.*, 2004), a possibilidade de associação a outros fármacos (OMS, 2013) e sua capacidade de gerar espécies radicalares altamente reativas (POSNER; O'NEILL, 2004; OLLIARO *et al.*, 2001). Além disso, é possível realizar modificações na estrutura química das ARTs, de modo a se otimizar a atividade antimalárica. MAGUEUR e colaboradores (2006), por meio da substituição da função carbonila por um grupo difluoretileno, sintetizaram um derivado sintético que apresentou melhor atividade que a artemisinina frente a testes de atividade realizados em ratos.

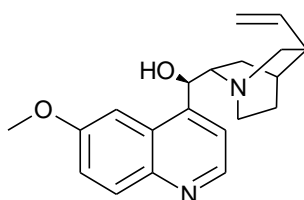
Embora o curto $t_{1/2}$ dessa classe de antimaláricos represente uma vantagem ao tratamento da doença, o mesmo pode constituir um risco, possibilitando a ocorrência de recrudescência (WHITE, 1998), uma vez que a carga remanescente de parasitas, que não são mortos pela ação do fármaco, pode ocasionar um quadro de reinfeção.

Durante muitos anos não foram verificadas evidências significativas de resistência às ARTs (MESHNICK, 2002). Tal quadro apresentou uma alteração, com base em estudos que apontaram para o desenvolvimento de resistência a determinados tratamentos com base em ARTs (CARRARA *et al.*, 2009; BURKI,

2009; DONDORP *et al.*, 2010), podendo ser decorrentes do tratamento medicamentoso indiscriminado e incorreto.

3.2.8. ARILAMINOÁLCOOIS

Assim como as aminoquinolinas, os antimaláricos pertencentes à classe dos arilaminoálcoois possuem relação estrutural com o quinino (**24**), possuindo um anel quinolínico rígido, como pode ser verificado na FIGURA 10. Este, por sua vez, apresenta expressiva importância no tratamento de casos de malária clássica. No entanto, apresenta uma alta taxa de efeitos colaterais, podendo ocasionar arritmias e hipoglicemia. Dentre outros arilaminoálcoois utilizados na terapêutica estão a lumefantrina, a halofantrina e a mefloquina (SCHLITZER, 2008).



24

FIGURA 10 - ESTRUTURA QUÍMICA DO QUININO.

(MENEZES *et al.*, 2002).

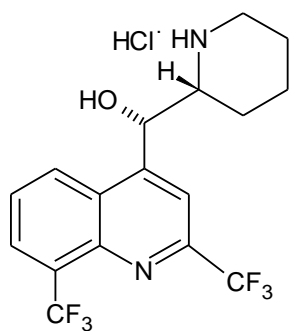
A mefloquina é o principal fármaco pertencente a essa classe, sendo bastante utilizada em combinação a outros antimaláricos no tratamento da maioria dos casos da doença (OMS, 2013).

Conforme reportado por SCHÜTZENMEISTER e colaboradores (2013), quimicamente, a mefloquina é uma estrutura semirrígida, possuindo um anel quinolínico planar e um anel piperidínico com conformação em cadeira, ambos ligados a um mesmo substituinte alquila com livre rotação. Aos carbonos 2 e 8

ligam-se radicais trifluorometil, e ao carbono 11 um radical hidroxila. Devido à presença de dois carbonos quirais, o fármaco admite dois pares de enantiômeros: (+), (-)-*eritro*-mefloquina, e (+), (-)-*treo*-mefloquina.

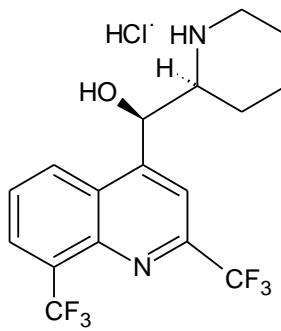
Comercialmente, a mefloquina é disponibilizada na forma de cloridrato, sendo este uma mistura racêmica de (+)-(11*S*,12*R*)-*eritro*-mefloquina e (-)-(11*R*,12*S*)-*eritro*-mefloquina (**25** e **26**) (FIGURA 11) (SCHMIDT *et al.*, 2012; SCHUTZEINMEISTER *et al.*, 2013). Mesmo na forma de sal, esse composto apresenta baixa solubilidade em água (BRASIL, 2010). Dentre os principais efeitos colaterais ocasionados por esse medicamento estão os sintomas neuropsiquiátricos dependentes de dose, potencialmente causados pelo enantiômero (-), que possui atividade bloqueadora de receptores de adenosina no SNC. Tais propriedades não são verificadas no enantiômero (+) (VERNALIS, 1998; MULLIÉ *et al.*, 2012). Um estudo realizado por DOW e colaboradores (2004) relatou a possibilidade de alteração na neurotoxicidade da mefloquina por meio de medidas como a administração de fármacos neuroprotetores, a purificação enantiomérica do fármaco e a modificação estrutural do farmacóforo.

Cloridrato de (+)-(11*S*,12*R*)-*eritro*-mefloquina



25

Cloridrato de (-)-(11*R*,12*S*)-*eritro*-mefloquina



26

FIGURA 11 - ENANTIÔMEROS CONSTITUINTES DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA (LARIAM®): (+)-(11*S*,12*R*)-*eritro*-mefloquina HCl (**25**) e (-)-(11*R*,12*S*)-*eritro*-mefloquina HCl (**26**). (ADAPTADO DE SCHMIDT *et al.*, 2011).

A despeito da semelhança estrutural às 4-aminoquinolinas (presença de anel quinolínico), o mecanismo de ação da mefloquina e dos demais arilaminoalcoois não é totalmente compreendido. Sua interação com o grupo heme livre é pouco significativa, não havendo expressiva ação na inibição da formação de hemozoína. Alguns estudos apontam para a ligação da mefloquina ao fosfatidilinositol, abundante nas membranas biológicas dos plasmódios (KLIMPT *et al.*, 2011). MAERTENS e colaboradores (2000) demonstraram a atuação bloqueadora da mefloquina sobre canais de cloreto dependentes de cálcio, o que indica uma relação sugestiva entre a ação dos arilaminoalcoois e os canais iônicos dos parasitas.

Em comparação a outros agentes antimaláricos, como as artemisininas, a mefloquina apresenta um longo tempo de meia-vida, próximo a 14 dias. Essa propriedade, além de reduzir a possibilidade de recrudescência em função da ação prolongada do fármaco, torna seu uso apropriado para tratamentos profiláticos da malária, principalmente em associação a outras classes de antiparasitários (MULLIÉ *et al.*, 2012). No entanto, a verificação de cepas de *Plasmodium* resistentes à mefloquina já foi relatada em diferentes ocasiões. Em 1988, ODUOLA e colaboradores induziram resistência ao cloridrato de mefloquina em *P. falciparum* por meio de exposição contínua ao fármaco *in vitro*. JEFFRESS e FIELDS, em 2005, verificaram a relação entre genes parasitários em quatro cromossomos distintos e a presença de altos índices de resistência à mefloquina em *P. falciparum*.

3.3. TERAPIA COMBINADA COM BASE EM ARTEMISININAS (ACT)

Conforme WHITE (1998), o desenvolvimento de resistência pelo parasita está associado a diversos fatores. A seleção de patógenos naturalmente resistentes, ou a ocorrência de mutações no genoma dos plasmódios são fatores de resistência relacionados diretamente aos parasitas. Outros aspectos, associados aos fármacos, podem ser apontados. Substâncias com $t_{1/2}$ excessivamente longos, como a cloroquina, podem favorecer o desenvolvimento de parasitas resistentes pelo

contato prolongado com o fármaco. A exposição dos patógenos a doses subterapêuticas pode selecionar as cepas parasitárias resistentes, eliminando apenas as mais suscetíveis. Frente a essa série de fatores, a associação de substâncias apresenta vantagens em relação à monoterapia. A ação antiparasitária combinada de duas ou mais substâncias promove a ampla eliminação dos patógenos, e reduz o desenvolvimento de resistência.

O Relatório Mundial da Malária da OMS do ano de 2013 adotou como primeira linha de tratamento de casos confirmados de malária a terapia combinada com base em artemisininas (ACT), que consiste na associação de ARTs com antimaláricos pertencentes a outras classes. Essa medida é utilizada em 79 dos 88 países nos quais a doença é considerada endêmica, com foco principalmente nos casos de malária não complicada. As manifestações mais severas da doença são tratadas com quinino, arteméter intramuscular ou artesunato.

Há cinco principais ACTs recomendadas pela OMS (2013). São propostas as associações entre: arteméter e lumefantrina; artesunato e amodiaquina; artesunato e sulfadoxina-pirimetamina; dihidroartemisinina e piperaquina; artesunato e mefloquina. A escolha da ACT a se utilizar depende de fatores como a disponibilidade, o preço, a eficácia terapêutica do tratamento, as condições políticas e as condições sociais das regiões geográficas acometidas pela doença.

3.4. FÁRMACOS MULTIFUNCIONAIS

3.4.1. PRINCÍPIO DE AÇÃO E NOMENCLATURA

Assim como outras doenças multifatoriais, a malária possui um mecanismo patológico complexo, interferindo em múltiplos processos fisiológicos de modo a causar seus sintomas. O tratamento em monoterapia, portanto, apresenta-se

ineficaz em muitos casos, devido à inabilidade de um único fármaco em interferir com os fatores patológicos em totalidade, agindo apenas em um dos múltiplos sítios-alvo relacionados à doença (BANSAL; SILAKARI, 2014).

O artifício da associação medicamentosa apresenta uma evolução em relação à monoterapia no tratamento de doenças multifatoriais. A ação combinada de dois ou mais fármacos em sítios-alvo distintos não somente diminui os índices de resistência, como também potencializa a eficiência terapêutica (CAVALLI; BOLOGNESI, 2009).

No entanto, a administração de “coquetéis” medicamentosos pode aumentar a complexidade farmacológica do tratamento. Cada medicamento apresenta padrões diferentes quanto ao comportamento farmacocinético e farmacodinâmico, em consequência de sua composição intrínseca. Como consequência, o risco de interações medicamentosas consequentes dessa estratégia é exacerbado, intensificando a taxa de efeitos adversos verificados. Além disso, a complexidade do tratamento tende a reduzir o padrão de adesão terapêutica por parte dos pacientes (CAVALLI *et al.*, 2008).

Frente à busca por alternativas no tratamento de doenças multifatoriais, de modo a se intensificar os efeitos sinérgicos sobre sítios-alvo distintos e se reduzir os efeitos colaterais, uma nova vertente ganhou espaço nos últimos anos: o uso de uma única entidade química com capacidade de agir simultaneamente sobre múltiplos alvos (FIGURA 12), apresentando propriedade multifuncional. Tais compostos apresentam diferentes denominações na literatura. Alguns autores referem-se a esses compostos como “híbridos” (FANG *et al.*, 2010) ou “multimodais” (BANSAL; SILAKARI, 2014). O termo “*Multi-target-directed-ligand*” (MTDL) é recorrentemente utilizado na designação por alguns autores (BOLOGNESI *et al.*, 2007; PARASURAMAN *et al.*, 2014).

No ano de 2004, MORPHY e colaboradores propuseram uma nova designação para esse tipo de substâncias. O termo “*Designed Multiple Ligand*” (DML) apresenta uma descrição abrangente para compostos descobertos, planejados, modificados ou sintetizados quimicamente, com o objetivo de agir sobre os múltiplos sítios-alvo de uma doença multifatorial, aumentando a eficácia e a segurança do tratamento.

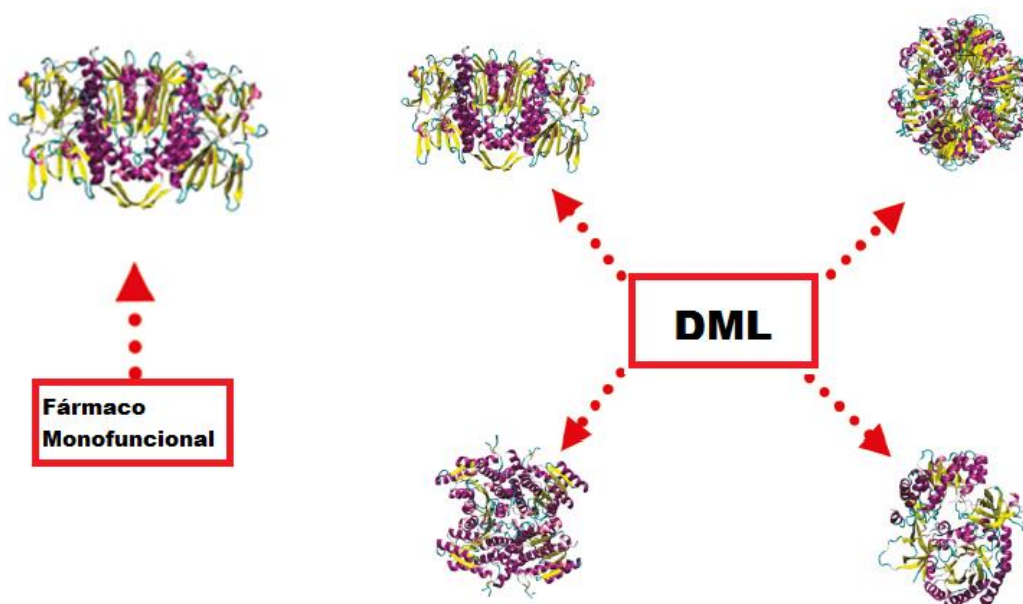


FIGURA 12 - AÇÃO DE UM FÁRMACO MONOFUNCIONAL E UM DML EM RECEPTORES-ALVO. (ADAPTADO DE CAVALLI & BOLOGNESI, 2009).

3.4.2. ESTRATÉGIAS PARA A OBTENÇÃO DE DMLs

Uma revisão de literatura realizada por MORPHY e RANKOVIC (2006), com base na análise de 281 DMLs, permitiu a classificação de duas estratégias básicas para a obtenção desses compostos. A primeira tem início partindo-se de uma única molécula, a qual conhecidamente apresente um farmacóforo de expressiva atividade sobre um sítio-alvo de interesse, e outros com no mínimo traços de atividade sobre os demais sítios visados. Essa estratégia, denominada “*1 starting compound*” (1SC), resulta na obtenção de moléculas análogas à de partida, por meio de modificações químicas pontuais, as quais alterem de forma balanceada a expressividade das diferentes porções farmacofóricas. Obtém-se, portanto, uma única entidade química com atividades distintas sobre múltiplos sítios-alvo. As esferas apresentadas na FIGURA 13 (1) representam um composto de partida e seu DML derivado. As regiões sombreadas em azul e amarelo representam as porções farmacofóricas distintas.

A segunda estratégia para obtenção de DMLs, denominada “*2 starting compounds*” (2SC), baseia-se na associação química de duas moléculas que

apresentem farmacóforos de alta afinidade a sítios-alvo distintos. Tal associação é realizada de três maneiras: por meio da ligação entre os dois farmacóforos com eliminação das porções estruturais não-farmacofóricas (*merging*); através da associação direta entre as duas moléculas com base em sítios químicos de ligação (*fusing*); ou com o uso de grupos conectores, que atuam como ponte de ligação entre as duas moléculas (*linking*). A estratégia 2SC é apresentada na FIGURA 13 (2).

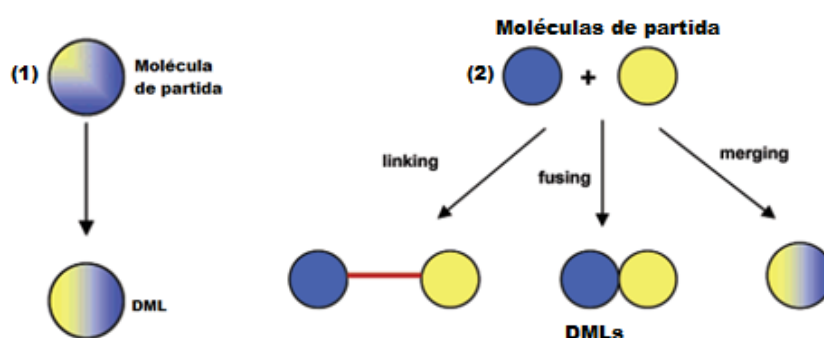


FIGURA 13 - ESTRATÉGIAS PARA OBTENÇÃO DE DMLs.
(ADAPTADO DE MORPHY & RANKOVIC, 2006).

3.4.3. DESAFIOS NO DESENVOLVIMENTO DE DMLs

Independente da estratégia utilizada para sua formação, os DMLs apresentam alterações em suas propriedades físico-químicas, com relação às moléculas de partida. Mudanças principalmente nos padrões de solubilidade e pKa são observadas. DMLs em geral possuem também peso e volume molecular maiores que os compostos de origem, o que ocasionalmente acarreta em alterações negativas de seu perfil farmacocinético. Outro fator a se considerar é a preservação da integridade das regiões farmacofóricas de interesse e a possibilidade da geração de novos farmacóforos no composto multifuncional, como resultado de seu processo de obtenção (MORPHY *et al.*, 2004).

Embora tais alterações apresentem-se como dificuldades na estratégia de obtenção de DMLs, diversos estudos na área têm como foco principal a minimização desses fatores, por meio do planejamento dos fármacos com estimativa de sua atividade *in vitro* e *in vivo* ou por modelagem molecular (CAVALLI; BOLOGNESI, 2012).

3.4.4. USO E VANTAGENS DO USO DE DMLs NO TRATAMENTO DE DOENÇAS MULTIFATORIAIS

Diversos estudos apresentaram dados acerca do uso de DMLs no tratamento de doenças multifatoriais. Dentre eles, é importante citar o trabalho de BOLOGNESI e colaboradores (2009), acerca da doença de Alzheimer que, partindo de estudos prévios acerca da doença, sintetizaram um composto multifuncional a partir da associação entre a caproctamina e a idebenona. A inibição da enzima acetilcolinesterase exercida pela caproctamina modula os níveis sinápticos de acetilcolina. A idebenona, um derivado sintético da coenzima Q, apresenta atividade antioxidante, impedindo a polimerização de peptídeos A β amiloides e a hiperfosforilação da proteína *Tau*, cuja precipitação contribui para a morte neuronal.

O DML sintetizado, possuindo como núcleo o radical 1,4-benzoquinona (proveniente da coenzima Q) e como cadeias laterais as porções provenientes da caproctamina, foi patentado com o nome de Memoquin® (**27**) (FIGURA 14).

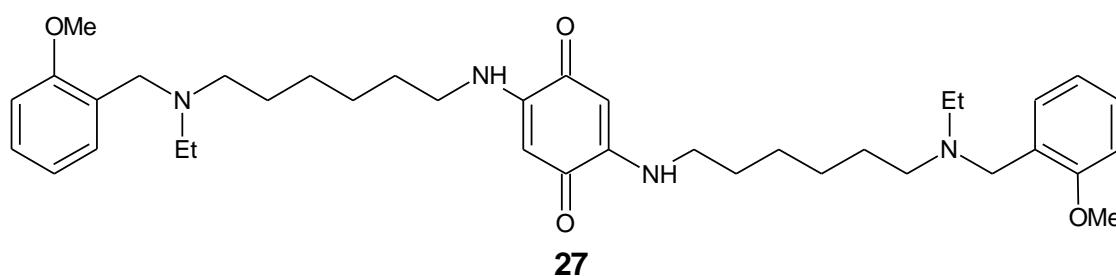


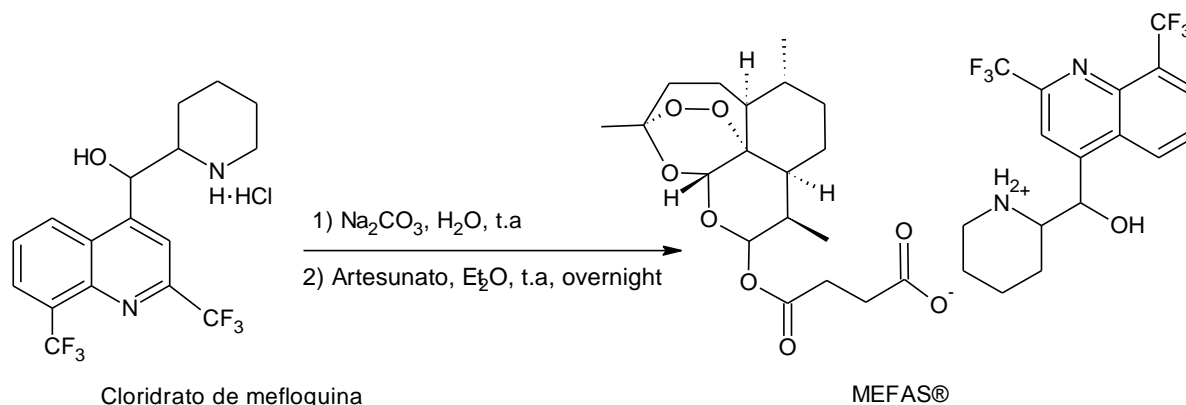
FIGURA 14 - ESTRUTURA QUÍMICA DO MEMOQUIN®.
(BOLOGNESI *et al.*, 2009).

3.4.5. ESTUDOS DE OBTENÇÃO DE DMLs PARA O TRATAMENTO DA MALÁRIA

O uso de compostos multifuncionais no tratamento da malária, como alternativa de otimização das ACTs para o combate dos múltiplos fatores que contribuem para o desenvolvimento da doença, foi um fator estimulante a vários estudos. Muitos dos DMLs utilizados na área envolvem a associação entre artemisininas e antimaláricos com núcleos quinolínicos, como as aminoquinolinas e os arilaminoálcoois.

VAROTTI e colaboradores (2008), tendo como base o princípio da terapia combinada com artemisininas, realizaram a síntese de um DML a partir da associação direta entre o cloridrato de mefloquina e o artesunato. O composto sintetizado (ESQUEMA 2) foi o sal artesunato de mefloquina, registrado como MEFAS® (28). A associação entre os dois fármacos se dá, contudo, através uma ligação iônica, sendo as partes prontamente dissociáveis em meio aquoso. Uma vez que os DMLs são tradicionalmente obtidos por ligações covalentes entre dois fármacos, a classificação do artesunato de mefloquina como DML é questionável.

A avaliação da atividade antimalárica deste DML em comparação a seus fármacos precursores demonstrou sua maior atividade *in vitro* sobre estirpes de *P. falciparum* em relação a misturas de artesunato e mefloquina em diferentes proporções. Além disso, testes *in vivo* frente a ratos infectados com *P. berghei* indicaram que uma dose diária inicial de 10 mg/kg apresentou atividade curativa sem recrudescência. Testes utilizando as mesmas concentrações de artesunato e mefloquina, em monoterapia e em associação medicamentosa, resultaram na morte das cobaias (VAROTTI et al, 2008).



ESQUEMA 4 - SÍNTESE E ESTRUTURA QUÍMICA DO MEFAS® (ARTESUNATO DE MEFLOQUINA).

(ADAPTADO DE VAROTTI *et al.*, 2008).

De acordo com WALSH e colaboradores (2007), a associação de compostos com o uso de grupos conectores (*linkers*) apresenta-se como o modo mais simples e efetivo de obtenção de DMLs. Com base nisso, foi realizada a síntese de um composto híbrido entre a artemisinina e o quinino (**29**) (FIGURA 15). Partindo-se da modificação do grupo funcional vinílico do quinino a um grupo carboxílico, foi possível a associação entre os dois fármacos, utilizando-se um grupamento éster como *linker*.

Frente a culturas de *P. falciparum*, o composto mostrou-se mais potente que os fármacos administrados isoladamente. Demais experimentos realizados também demonstraram o triplo da atividade em comparação a uma mistura 1:1 de quinino e artemisinina, confirmando as vantagens de seu uso em relação à associação de substâncias em formas farmacêuticas distintas, com elevação da atividade antimalárica. Os autores também enfatizam a possibilidade de redução do número e da durabilidade dos efeitos adversos associados às classes de antimaláricos envolvidas na síntese do composto multifuncional.

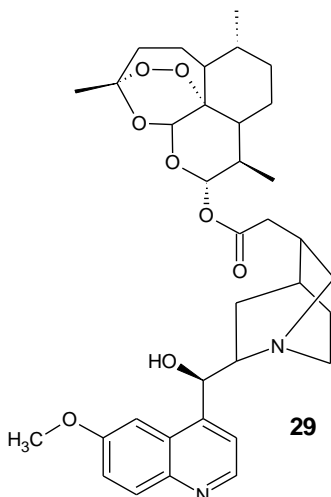


FIGURA 15 – DML SINTETIZADO POR WALSH *et al.*, 2007, A PARTIR DE ARTEMISININA E QUININO.

Um trabalho realizado por ARAÚJO e colaboradores (2009) estudou a formação de compostos multifuncionais a partir de artemisininas 10-carba ligadas associadas à 4-amino-7-cloroquinolina. Foram avaliados diferentes tipos de *linkers*, com variações nos grupos funcionais e no tamanho da cadeia carbônica. Testes efetuados sobre duas estirpes distintas de *P. falciparum* demonstraram melhora da atividade antimalárica dos DMLs em relação aos fármacos de partida. A melhor atividade foi verificada para o composto **30**, representado na FIGURA 16.

CAPELA *et al.*, em 2011, realizaram a síntese de dois DMLs por meio da associação entre a artemisinina e a primaquina. Ambos os compostos (**31** e **32**, FIGURA 17) apresentaram atividade *in vitro* superior à de uma mistura 1:1 de ART e primaquina sobre estágios hepáticos de *P. berghei*. Experimentos em ratos infectados com *P. berghei* resultaram em redução dos níveis plasmodiais hepáticos pela injeção intraperitoneal de 26 $\mu\text{mol/kg}$ de ambos os híbridos. A administração de **32**, por sua vez, também apresentou capacidade de retardar a infecção sanguínea após o período de incubação hepática.

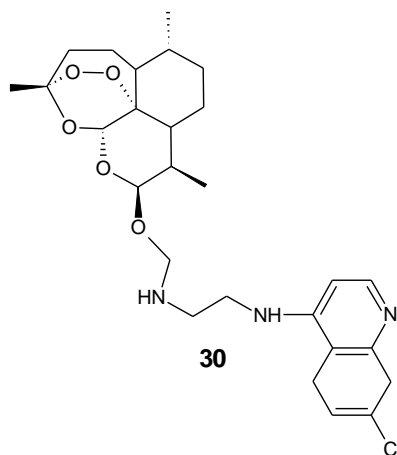


FIGURA 16 - DML SINTETIZADO POR ARAÚJO *et al.*, 2009, A PARTIR DE ARTEMISININA E 4-AMINO-7-CLOROQUINA.

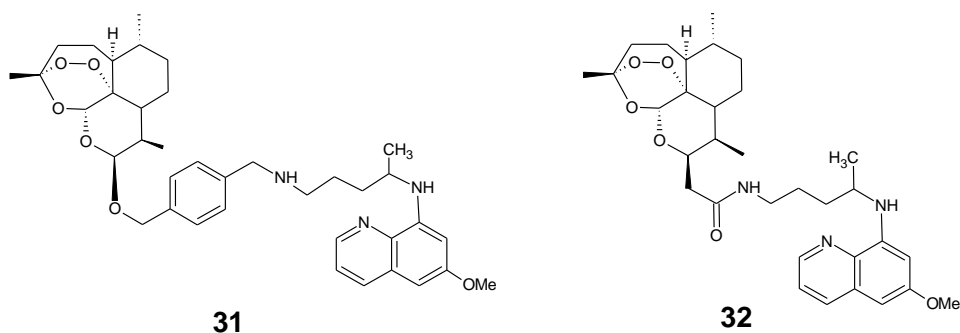


FIGURA 17 - FÁRMACOS HÍBRIDOS SINTETIZADOS POR CAPELA *et al.*, 2011, A PARTIR DE ARTEMISININA E PRIMAQUINA.

Em 2005, GRELLEPOIS *et al.* sintetizaram dois DMLs pela conjugação entre derivados de artemisinina e mefloquina. O primeiro composto (**33**) (FIGURA 18) foi formado através da associação direta entre o derivado de ART e a mefloquina por meio de uma ligação covalente.

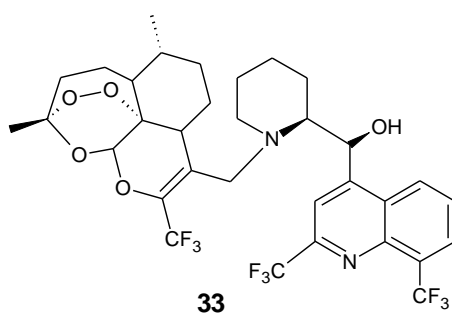


FIGURA 18 – DML **33**, SINTETIZADO POR GRELLEPOIS *et al.*, 2005, A PARTIR DE ARTEMISININA E MEFLOQUINA.

No segundo caso (**34**) (FIGURA 19), a associação foi realizada utilizando-se um *linker* diéster. No organismo, sob a ação de esterases plasmáticas, ocorre a hidrólise desse *linker*, com a liberação dos fármacos ativos independentemente.

Os dois compostos foram submetidos a testes *in vitro* frente a quatro estirpes de *P. falciparum*, com diferentes padrões de resistência à mefloquina, e os resultados foram comparados com dados obtidos para a administração isolada de cloroquina, mefloquina e arteméter. Em ambos os casos verificou-se atividade, com valores de concentração inibitória média (IC₅₀) na faixa de 2,4 a 17,2 nM. Entretanto, o composto **33** apresentou menor eficiência em relação ao arteméter, e em comparação ao composto **34**, sem alterações no padrão de sensibilidade pelas estirpes testadas.

Apesar de sua maior eficiência, verificaram-se no composto **34** diferenças nos perfis de sensibilidade das diferentes estirpes de *P. falciparum*. Isso sugere que após a hidrólise do *linker* diéster há expressão dos mecanismos de resistência dos parasitas, resultando em efluxo ou inativação parcial da porção referente à mefloquina.

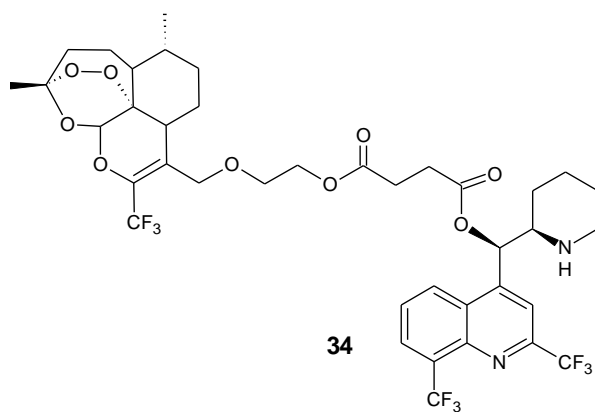


FIGURA 19 - DML COM *LINKER* DIÉSTER SINTETIZADO POR GRELLEPOIS *et al.*, 2005, A PARTIR DE ARTEMISININA E MEFLUQUINA.

Com base nos trabalhos de JEYADEVAN *et al.*, 2004, e suas conclusões de que a natureza dos *linkers* influencia a atividade e a potência de compostos associados, LOMBARD *et al.* (2012) avaliaram a atividade de dois híbridos de artemisininas e 4-aminoquinolinas, obtidos pelo mesmo grupo em 2010, com

diferentes grupos conectores. Para o composto **35** (FIGURA 20) utilizou-se o *linker* alifático diaminopropano, ao passo que para o híbrido **36** usou-se o grupo conector cíclico aminoetilpiperazina.

Os ensaios de atividade *in vitro* sobre a estirpe 3D7 de *P. falciparum* demonstraram a atividade e a alta estabilidade de ambos os compostos, com IC₅₀ de 8,7 nM e 29,5 nM para os compostos **35** e **36**, respectivamente. Utilizou-se como padrão a cloroquina (IC₅₀ = 20 nM). Os resultados da avaliação da atividade antimalárica *in vivo* sobre ratos infectados com *P. vinckei* para o composto **35** demonstram forte efeito antimalárico em doses baixas, com eliminação significativa da carga parasitária com administração oral de 25 mg/kg, e intraperitoneal de 2,5 mg/kg, durante cinco dias. Verificou-se o mesmo resultado para o composto **36** em doses orais de 50 mg/kg e intraperitoneais de 7,5 mg/kg. Como fármaco de referência utilizou-se o artesunato. A administração intraperitoneal de 30 mg/kg eliminou aproximadamente 97% dos parasitas. O ajuste da dose não gerou alterações significativas. Testes de administração oral demonstraram um clearance parasitário máximo a uma dosagem de 80 mg/kg. A verificação dos melhores resultados com o composto **35** sugerem a influência positiva do uso de *linkers* alifáticos no desempenho de compostos multifuncionais.

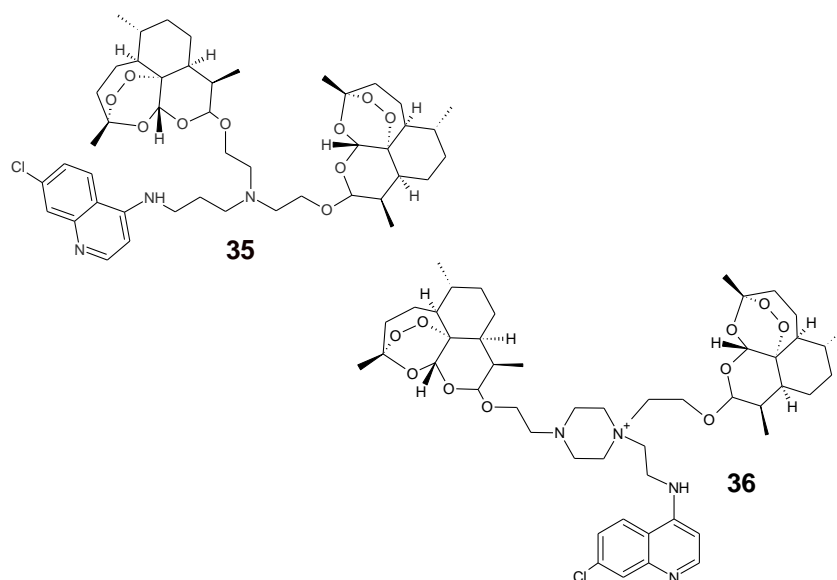


FIGURA 20 - COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS AVALIADOS POR LOMBARD *et al.*, 2012, A PARTIR DE ARTEMISININA E 4-AMINOQUINOLINAS.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL UTILIZADO

O cloridrato de mefloquina foi fornecido pelo Instituto Farmanguinhos de Tecnologia em Fármacos, vinculado à Fundação Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro. A artemisinina foi adquirida da empresa Hangzhou Reb Technology Co. LTD, localizada na cidade de Hangzhou, na província chinesa de Zhejiang.

O cloreto de tionila, assim como a diciclohexilcarbodiimida (DCC) foram provenientes do Laboratório de Controle de Qualidade localizado no Departamento de Farmácia, no Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Os demais reagentes e produtos químicos utilizados em síntese foram provenientes do Laboratório de Síntese de Heterociclos e Glicoconjugados (SinHeGli), localizado no Departamento de Bioquímica, no Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, no qual o trabalho em questão foi majoritariamente desenvolvido, com uso geral de sua infraestrutura.

4.2. MÉTODOS GERAIS

4.2.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Para as análises de cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas cromatoplasmas de alumínio com revestimento em sílica gel 60. A aplicação dos compostos de interesse foi realizada com o uso de capilares de vidro e as placas foram eluídas com diferentes misturas de solventes, em câmaras de vidro cobertas. A visualização dos compostos foi feita por duas maneiras: com o uso de

soluções reveladoras, (H_2SO_4 a 10 % em etanol; verde de bromocresol a 0,01% em NaOH 0,1mol/L; ninidrina a 10% em etanol e orcinol a 0,5% em H_2SO_4 conc./etanol 1:20 ou 1:10) e por meio de visualização em câmara de ultravioleta.

Os experimentos de cromatografia em coluna foram realizados conforme descrito por STILL e colaboradores (1978), sendo utilizada sílica gel 60 (230-400 mesh) como fase estacionária, e diferentes misturas de solventes como fases móveis.

4.2.2 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

4.2.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A caracterização dos intermediários e produtos de reação foi majoritariamente feita por meio de análises de espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C , assim como ensaios bidimensionais do tipo HSQC e HMBC. Os experimentos foram realizados em um espectrômetro BRUKER DPX 200 MHz e um espectrômetro BRUKER Advance DRX 400 MHz. As massas de amostras (10 mg para espectros de ^1H ; 30 mg para espectros de ^{13}C) foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de solventes deuterados, (CDCl_3 ; $\text{DMSO}-d_6$; D_2O) acondicionadas em tubos de RMN de 5 mm de diâmetro, à temperatura de 30 °C. Como padrão interno para ajuste dos espectros foi usado o tetrametilsilano (TMS) deuterado.

Os espectros de RMN adquiridos foram processados e interpretados com o auxílio do software TopSpin versão 3.1. A avaliação de parâmetros como os valores de deslocamentos químicos (em partes por milhão, ppm), tal como as magnitudes das constantes de acoplamento foram avaliadas por meio do software. A nomenclatura dos sinais foi denominada pelas siglas *s*, *d*, *t*, *q*, *m*, e *br*, respectivamente para simpleto, dupletto, tripleto, quarteto, multipletto e broad.

4.2.2.2 Espectrometria na Região do Infravermelho (IV)

A obtenção dos espectros de infravermelho foi realizada no Centro de Estudos em Biofarmácia da UFPR com o uso de um espectrômetro ALPHA Bruker, com Transformada de Fourier (TF), a partir da análise direta das amostras no estado sólido pelo método de reflexão atenuada sobre um cristal de diamante. O processamento e a interpretação dos espectros deram-se com auxílio do software Opus Viewer.

4.2.2.3 Espectrometria de Massas (MS)

Os espectros de massas foram adquiridos pelo método de ionização e dessorção a laser assistida por matriz acoplada a analisador de massas de tempo de voo (MALDI-TOF).

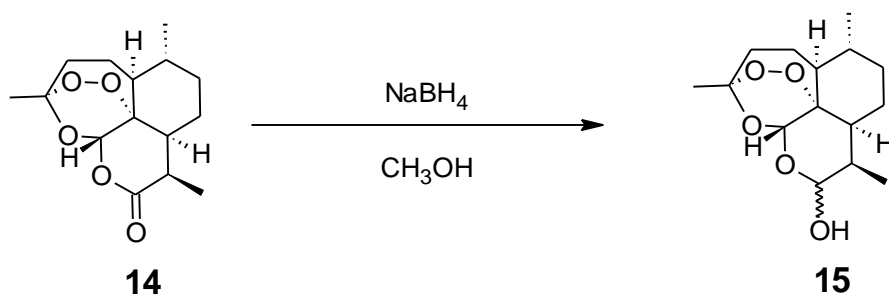
Aproximadamente 0,001 g das amostras foram diluídas em volume de metanol ou acetona suficiente para dissolução. O volume de 1 µL das soluções resultantes foi acrescido do mesmo volume de uma matriz à base de ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico (HCCA), e a mistura acondicionada em diferentes poços de uma placa metálica específica para a análise espectrométrica. Utilizou-se um equipamento MALDI-TOF/MS Autoflex II BRUKER (modo de reflexão positivo) para a aquisição, com faixa de aquisição de massas variável de acordo com as massas dos materiais analisados. A visualização e o processamento dos espectros gerados foram feitos por meio do software FlexAnalysis 2.0.

4.2.2.4 Síntese Orgânica

Os procedimentos sintéticos empregados neste trabalho envolveram metodologias tradicionais aplicadas em síntese orgânica, tomando-se como base experimentos descritos na literatura, passíveis ou não de modificações e adaptações. Os esquemas das principais reações químicas realizadas são apresentados no corpo do trabalho. A sessão de Anexos contempla os detalhes experimentais particulares para as principais reações executadas.

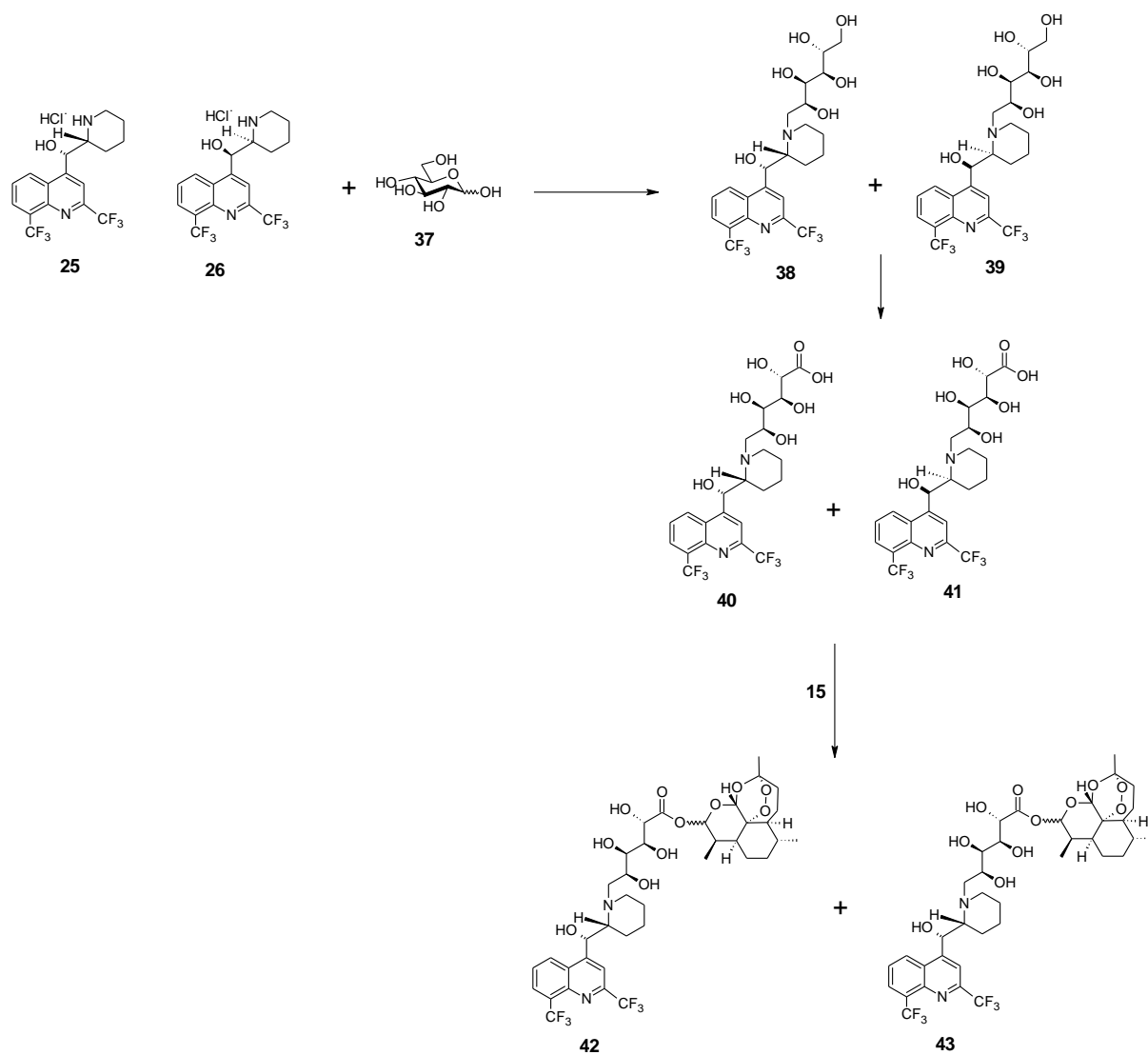
4.3. SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15)

A reação de redução da artemisinina (14) à dihidroartemisinina (15) foi realizada com base nos experimentos realizados por CAPELA (2011), com modificações, utilizando-se como agente redutor o borohidreto de sódio (NaBH_4) (Esquema 5). Detalhes da metodologia são apresentados na sessão de Anexos.



ESQUEMA 5 – SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15).

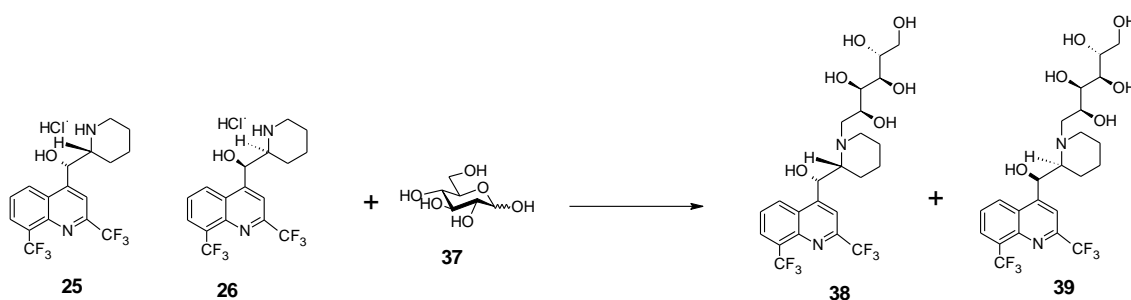
4.4. ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A SÍNTESE DE DMLs ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA (**25,26**) E A DIHIDROARTEMISININA (**15**) UTILIZANDO A D-GLUCOSE (**37**) COMO GRUPO CONECTOR



ESQUEMA 6 – ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A OBTENÇÃO DOS DMLs **42** E **43**.

4.5. TENTATIVAS DE REAÇÕES DE AMINAÇÃO REDUTIVA ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA (**25,26**) E A D-GLUCOSE (**37**)

As condições reacionais testadas na tentativa de se proceder esta etapa sintética consistiram principalmente em adaptações das técnicas descritas por BORSCH *et al.*, (1971), utilizando-se hidretos metálicos (NaBH_3CN , NaBH_4 , NaH) como agentes redutores para o intermediário enamina supostamente formado. As principais condições testadas são apresentadas nas Tabelas 1 e 2.



ESQUEMA 7 – AMINAÇÃO REDUTIVA ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA E A D-GLUCOSE.

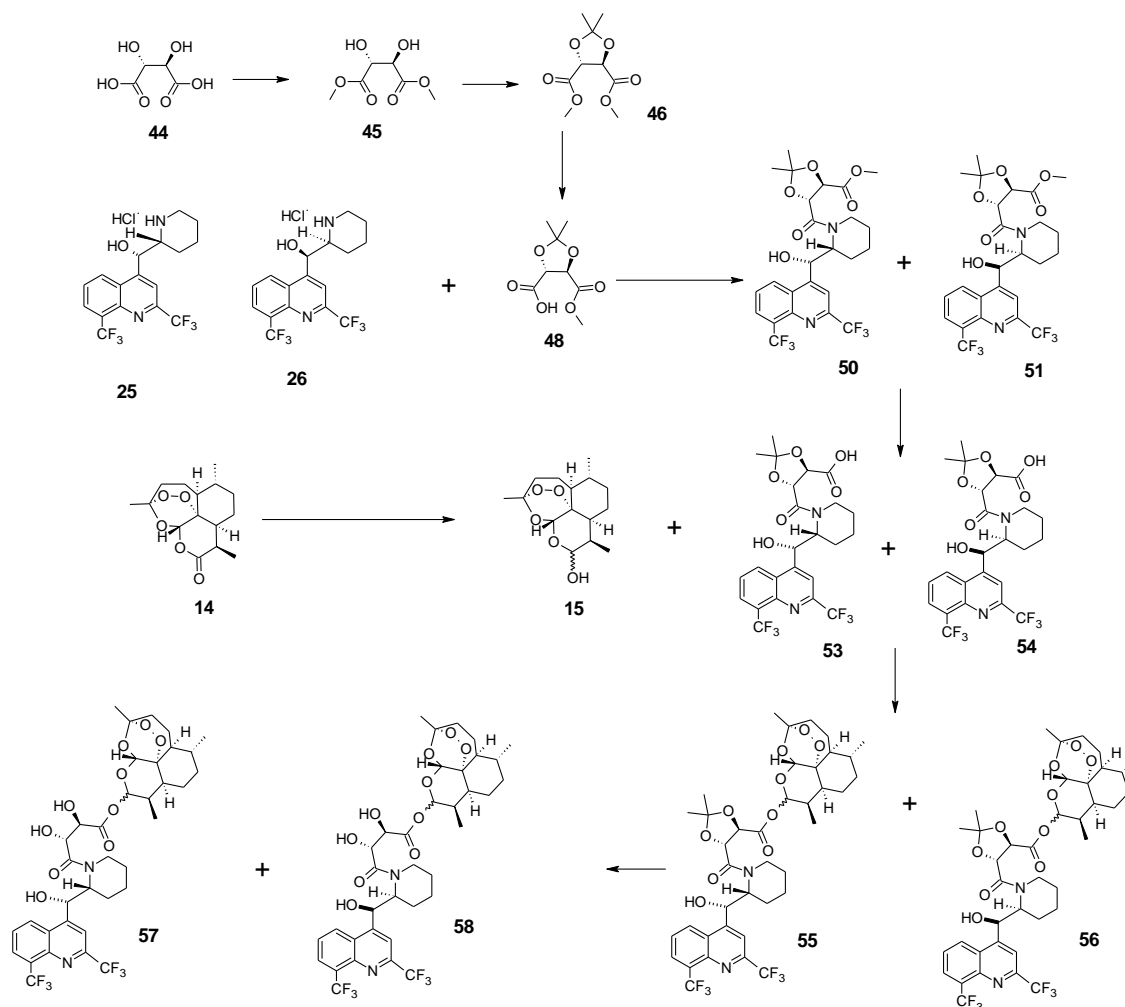
TABELA 1 – CONDIÇÕES SINTÉTICAS INICIAIS TESTADAS PARA A REAÇÃO DE AMINAÇÃO REDUTIVA.

Condições Testadas								
Condição	Melfoquina (eq)	Glucose (eq)	NaBH ₃ CN (eq)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Ácido	Base	Solvente
1	1	2,3	2	50	16	-	-	MeOH
2	1	2,3	2	80	16	HCl	-	MeOH
3	1	2,3	2	80	16	-	NaOH	MeOH/H ₂ O
4	1	2,3	2	80	16	-	-	MeOH/H ₂ O
5	1	2,3	6,6	80	08	-	-	H ₂ O
6	1	2,3	6,6	80	16	-	TEA	MeOH/H ₂ O
7	1	0	6,6	80	16	-	TEA	MeOH
8	1	2,3	0	80	16	-	TEA	MeOH
9	2,3	2,3	6,6	80	16	-	-	MeOH
10	2,3	1	6,6	80	16	-	-	DMF

TABELA 2 – ADAPTAÇÕES DAS CONDIÇÕES DESCRITAS POR MAGID *et al.* PARA A REAÇÃO DE AMINAÇÃO REDUTIVA

Condições Testadas						
Reação	Mefloquina ·HCl (eq)	Glucose (eq)	Tempo (h)	Solvente	Temperatura (°C)	NaBH ₃ CN (eq)
1	1	2	24	THF	T.A	3
2	1	2	24	CH ₃ CN	TA	3
3	1	2	8	THF	66	3
4	1	2	8	CH ₃ CN	80	3
5	1	2	8	CH ₃ OH	65	3

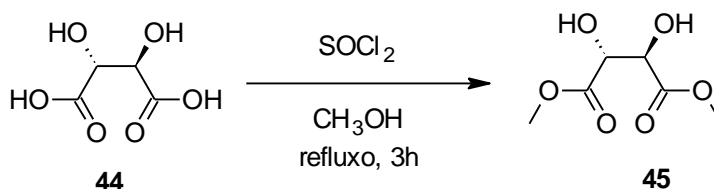
4.6. ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA OBTENÇÃO DE DMLs ENTRE O CLORIDRATO DE MEFLOQUINA (**25** e **26**) E A DIHIDROARTEMISININA (**15**) UTILIZANDO O ÁCIDO TARTÁRICO COMO GRUPO CONECTOR



ESQUEMA 8 – ROTA SINTÉTICA DELINEADA PARA A SÍNTESE DOS DMLs **55**, **56**, **57** e **58**.

4.7. SÍNTESE DO (2*R*,3*R*)-2,3-DIHIIDROXIBUTANODIATO DE METILA (**45**)

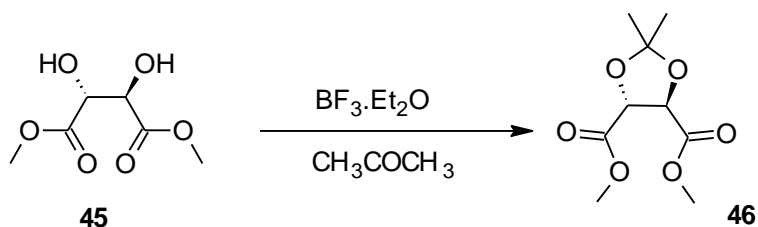
A segunda rota sintética proposta (Esquema 08) inicia-se com a metil-esterificação do ácido (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroxibutanodioico (ácido L-(+)-tartárico) (**44**) (Esquema 9). As metodologias testadas foram conduzidas conforme modificações do descrito por KIM *et al.*, (2001), que utilizou cloreto de tionila em metanol sob refluxo. Detalhes da metodologia são apresentados na sessão de Anexos.



ESQUEMA 9 – ESTERIFICAÇÃO DO ÁCIDO L-(+)-TARTÁRICO (**44**) A (2*R*,3*R*)-2,3-DIHIIDROXIBUTANODIATO DE DIMETILA (**45**).

4.8. SÍNTESE DO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXILATO DE DIMETILA (**46**)

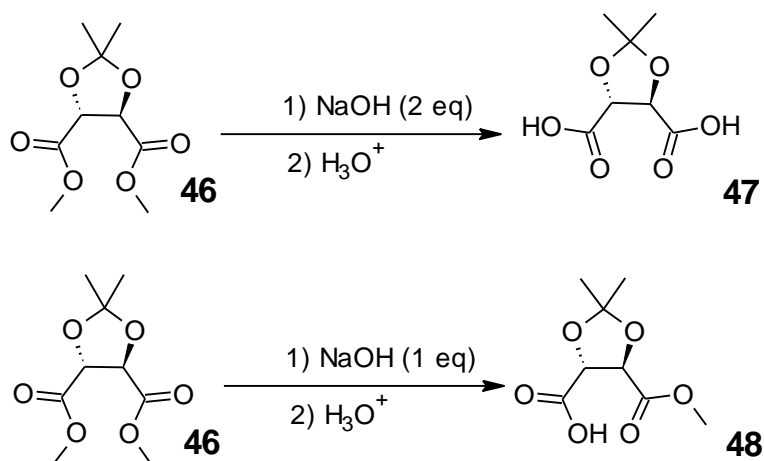
A proteção das hidroxilas do composto **45** para a obtenção do derivado **46** (Esquema 10) foi testada a partir de modificações nos estudos conduzidos por DINDAROĞLU e colaboradores (2014), os quais baseiam-se na reação com acetona em presença de trifluoreto de boro na forma de eterato (Tabela 03, p. 80). A sessão de Anexos descreve as condições empregadas, tal como as alterações realizadas.



ESQUEMA 10 – FORMAÇÃO DO COMPOSTO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXILATO DE DIMETILA (**46**).

4.9. SÍNTESE DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXÍLICO (**47**) E DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-5-(METOXYCARBONIL)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**48**) A PARTIR DA HIDRÓLISE DE **46**

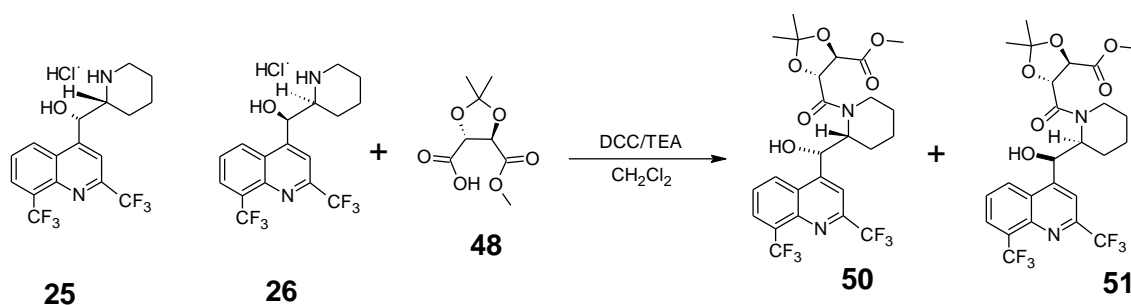
Para a formação dos ácidos carboxílicos **47** e **48**, (Esquema 11) derivados de **46**, modificações na metodologia de DINDAROĞLU *et al.* (2014) foram empregadas, visando a produtos de hidrólise total e parcial. Ambas as metodologias são explicitadas em Anexos.



ESQUEMA 11 – HIDRÓLISE DE **46** AOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS **47** E **48**.

4.10. SÍNTESE DOS DIASTEREISÔMEROS (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{{(*S*)-[2,8-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4-IL]}[(2*R*)-PIPERIDIN-2-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO DE METILA (**50**); E (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{{(*R*)-[2,8-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4-IL]}[(2*S*)-PIPERIDIN-2-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO DE METILA (**51**)

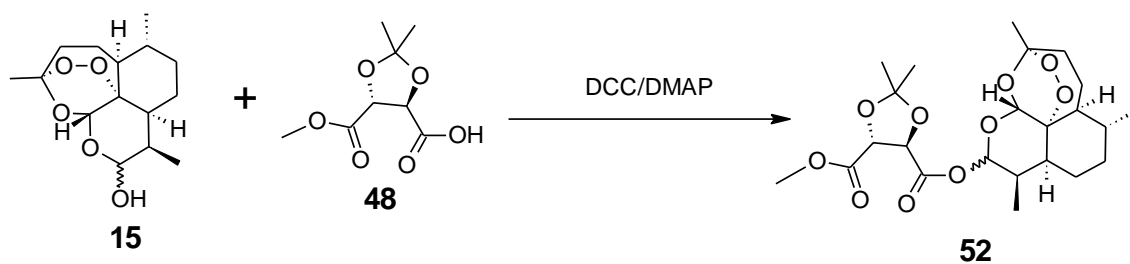
A reação de amidação entre os enantiômeros do cloridrato de mefloquina (**25** e **26**) e o composto **48** foi estudada frente a adaptações da metodologia descrita por RICHTER (2007). Detalhes são apresentados na sessão de Anexos.



ESQUEMA 12 – FORMAÇÃO DOS COMPOSTOS **50** E **51**.

4.11. REAÇÕES DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA (**15**) AO COMPOSTO **48**

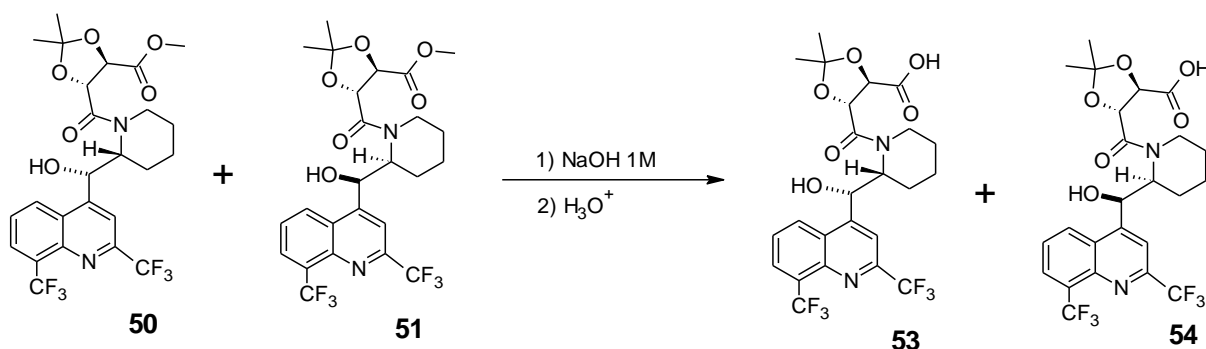
O estudo para a reação de formação do composto **52** (Esquema 13) foi efetuado de forma análoga à metodologia descrita por RICHTER (2007), utilizando-se o sistema DCC/DMAP como agente ativador do ácido carboxílico **48**, na presença da dihidroartemisinina (**15**).



ESQUEMA 13 – ASSOCIAÇÃO ENTRE A DIHIDROARTEMISININA E O ÁCIDO CARBOXÍLICO **48**.

4.12. SÍNTESE DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2'*R*)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**53**); E DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2'*S*)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**54**)

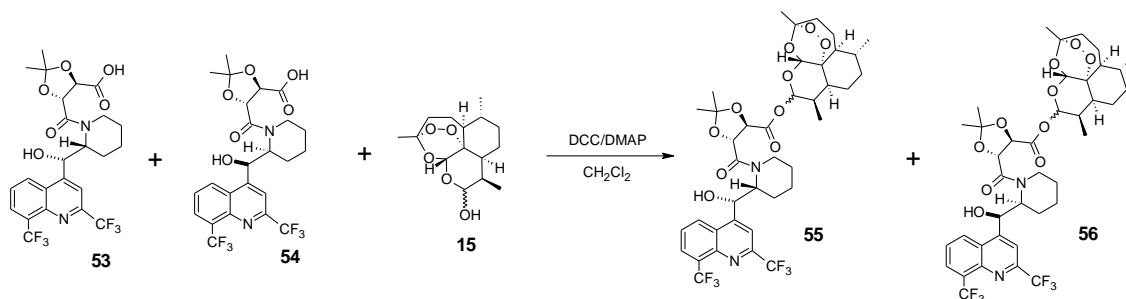
A hidrólise do grupo metil-éster dos compostos **50** e **51** por meio da adaptação da metodologia descrita por DINDAROĞLU *et al.* (2014) foi realizada visando à obtenção da mistura diastereoisomérica de **53** e **54**. Os detalhes experimentais são apresentados na sessão de Anexos.



ESQUEMA 14 – OBTENÇÃO DOS DIASTEREISÔMEROS **53** E **54**.

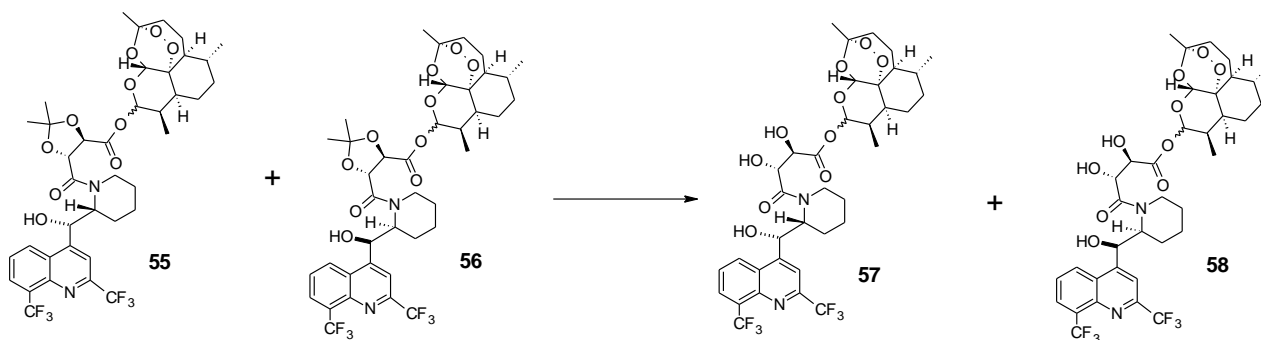
4.13. REAÇÕES DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA (15) A 53 E 54 PARA FORMAÇÃO DE COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS

A etapa de associação da dihidroartemisinina aos conjugados mefloquina/ácido tartárico constitui a formação dos DMLs visados. A metodologia empregada para essa reação consistiu em adaptação das condições reacionais propostas por RICHTER (2007), com o uso de DCC e DMAP. Os detalhes são descritos em Anexos.



ESQUEMA 15 – OBTENÇÃO DOS DMLs 55 E 56.

Formados os compostos 55 e 56, há a possibilidade de remoção do grupo protetor isopropilideno, gerando-se assim os correspondentes compostos derivados multifuncionais 57 e 58.



ESQUEMA 16 – ESQUEMA PARA A OBTENÇÃO DOS DMLS 57 E 58.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. CARACTERIZAÇÃO DA ARTEMISININA (14)

Após aquisição, a artemisinina foi caracterizada por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C , e seus deslocamentos químicos analisados de acordo com dados descritos na literatura (CAPELA, 2011). Como padrão interno foi utilizado o tetrametilsilano (TMS). Foi também adquirido o espectro na região do infravermelho, com destaque à presença da banda próxima a 1733 cm^{-1} , característica do grupamento carbonila, encontrado na estrutura da artemisinina. Os respectivos espectros podem ser visualizados nas Figuras 21, 22 e 23.

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 5,86 (s, 1H, H_{12}); 3,47–3,31 (m, 1H, H_9); 2,53–2,33 (m, 1H, H_{4a}); 2,12–1,95 (m, 2H, H_{4b} , H_{5a}); 1,93–1,84 (m, 1H, H_{8a}); 1,82–1,69 (m, 2H, H_{7b} , H_{8a}); 1,58–1,47 (m, 1H, H_{5b}); 1,44 (s, 3H, $\text{C}_3\text{--CH}_3$); 1,42–1,29 (m, 2H, H_{5a} , H_{6b}); 1,20 (d, 3H, $\text{J} = 7,2\text{ Hz}$, $\text{C}_9\text{--CH}_3$); 1,15–1,03 (m, 2H, H_{7a} , H_{8b}); 0,99 (d, 3H, $\text{J} = 5,6\text{ Hz}$, $\text{C}_6\text{--CH}_3$). **RMN ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 172,1 (C_{10}); 105,4 (C_3); 93,7 (C_{12}); 79,5 (C_{12a}); 50,1 (C_{5a}); 44,9 (C_{8a}); 37,5 (C_6); 35,9 (C_4); 33,6 (C_7); 32,9 (C_9); 25,2 ($\text{C}_3\text{--CH}_3$); 24,9 (C_5); 23,4 (C_8); 19,9 ($\text{C}_6\text{--CH}_3$); 12,6 ($\text{C}_9\text{--CH}_3$). **IV**, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ 2951-2848 (estiramento CH_3); 1733 (estiramento C=O); 1454 (dobramento CH_2); 1382 (dobramento CH_3); 1360-990 (estiramento C--O).

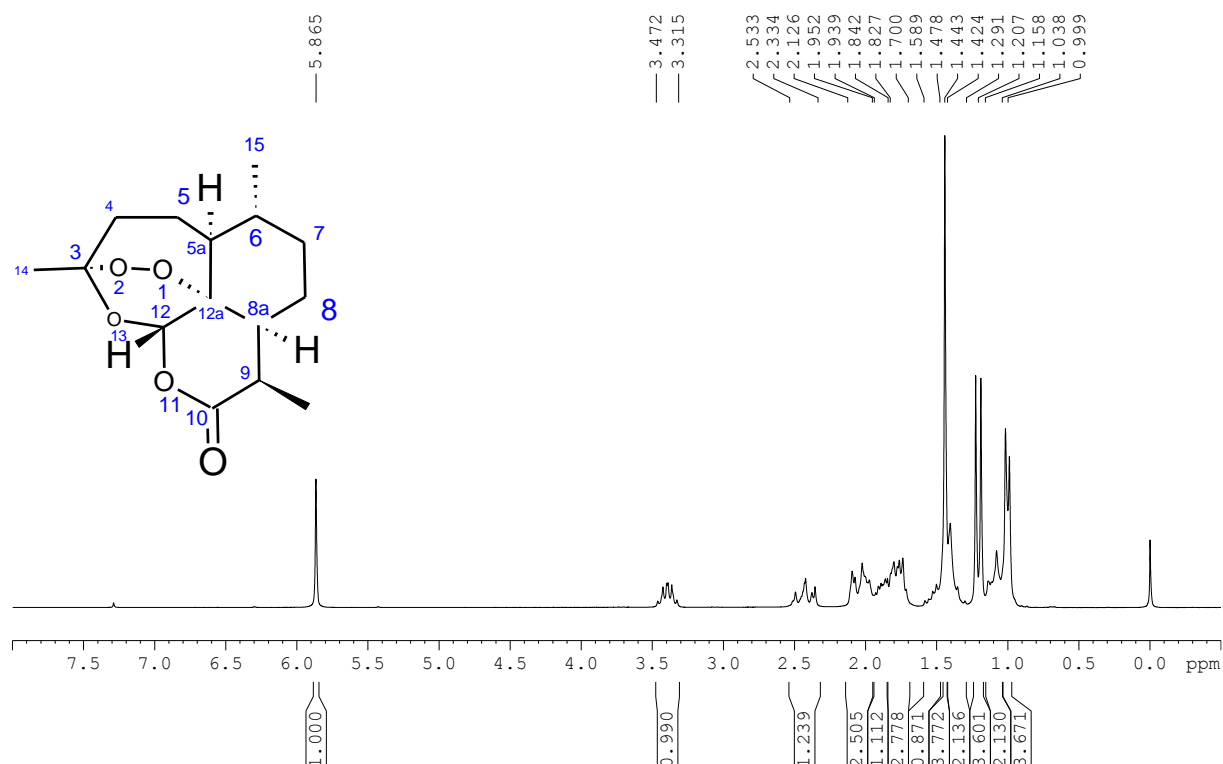


FIGURA 21 – ESPECTRO DE RMN DE ¹H (200MHz) DA ARTEMISININA EM CDCl₃ A 30°C, CALIBRADO EM 0 ppm PELO PADRÃO TMS.

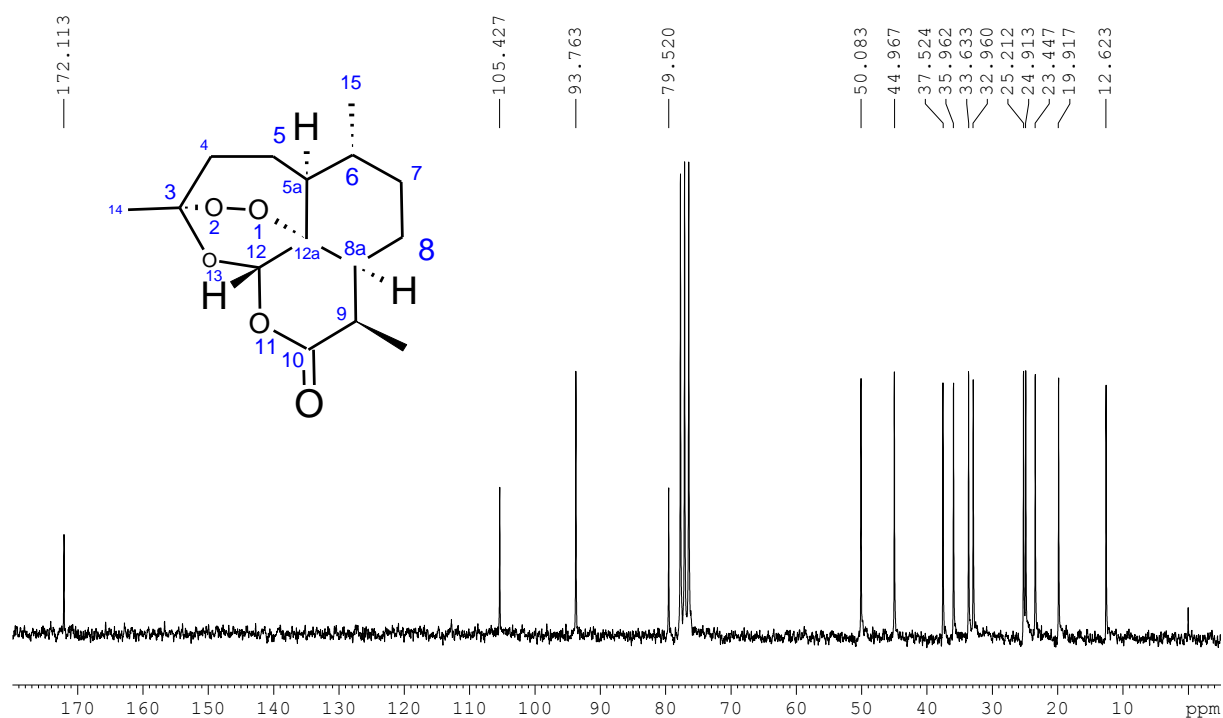


FIGURA 22 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³C (200 MHz) DA ARTEMISININA EM CDCl₃ A 30°C, CALIBRADO EM 0 ppm PELO PADRÃO TMS.

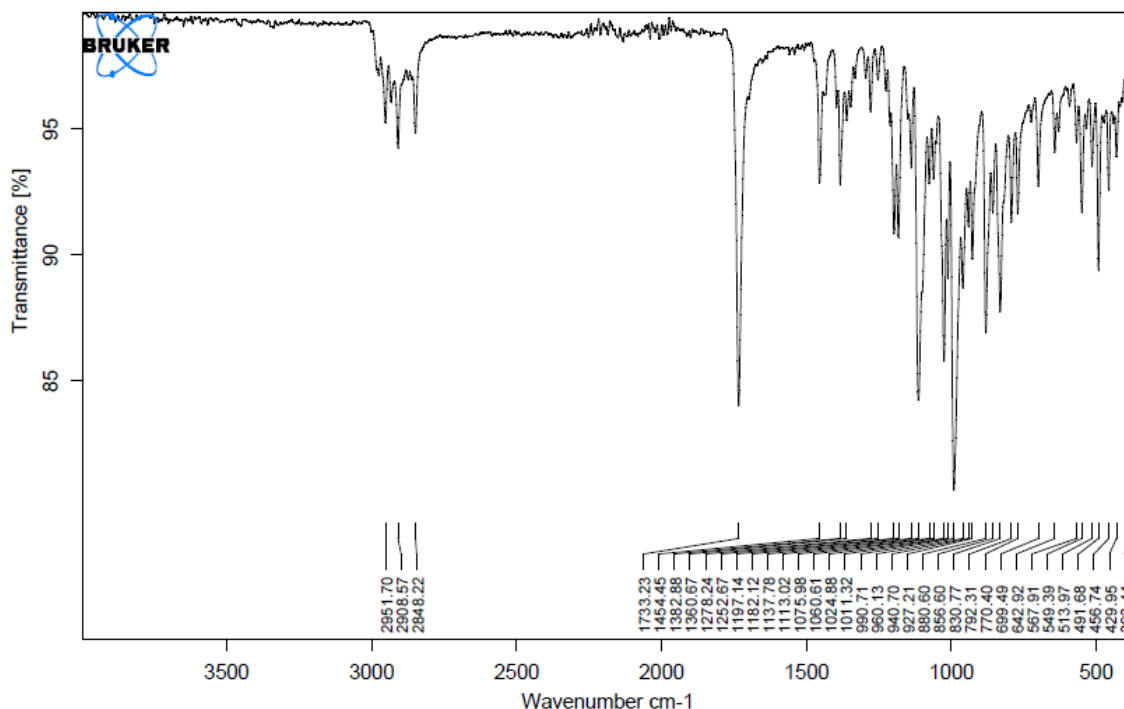


FIGURA 23 – ESPECTRO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO ADQUIRIDO PARA A ARTEMISININA.

5.2. CARACTERIZAÇÃO DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA

A avaliação do cloridrato de mefloquina frente aos dados descritos na literatura e métodos espectroscópicos de RMN de ^1H permitiu seu adequado assinalamento. Utilizou-se como solvente o clorofórmio deuterado e como padrão interno o TMS.

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 10,29 (*br*, 1H, H_{13}); 8,16 (*s*, 1H, H_3); 8,01 (*d*, 1H, $J = 8,5$ Hz, H_5); 7,65 (*d*, 1H, $J = 7,1$ Hz, H_7); 6,70 (*t*, 1H, $J = 7,9$ Hz, H_6); 6,63 (*br*, 1H, H_{18}); 6,27 (*s*, 1H, H_{11}); 3,89 (*d*, 1H, $J = 12,2$ Hz, H_{14}); 3,18 (*t*, 1H, $J = 11,3$ Hz, H_{12}); 3,0 (*m*, 1H, H_{14}); 2,06-1,80 (*m*, 4H, H_{15} , H_{16}); 1,26-0,98 (*m*, 2H, H_{17}).

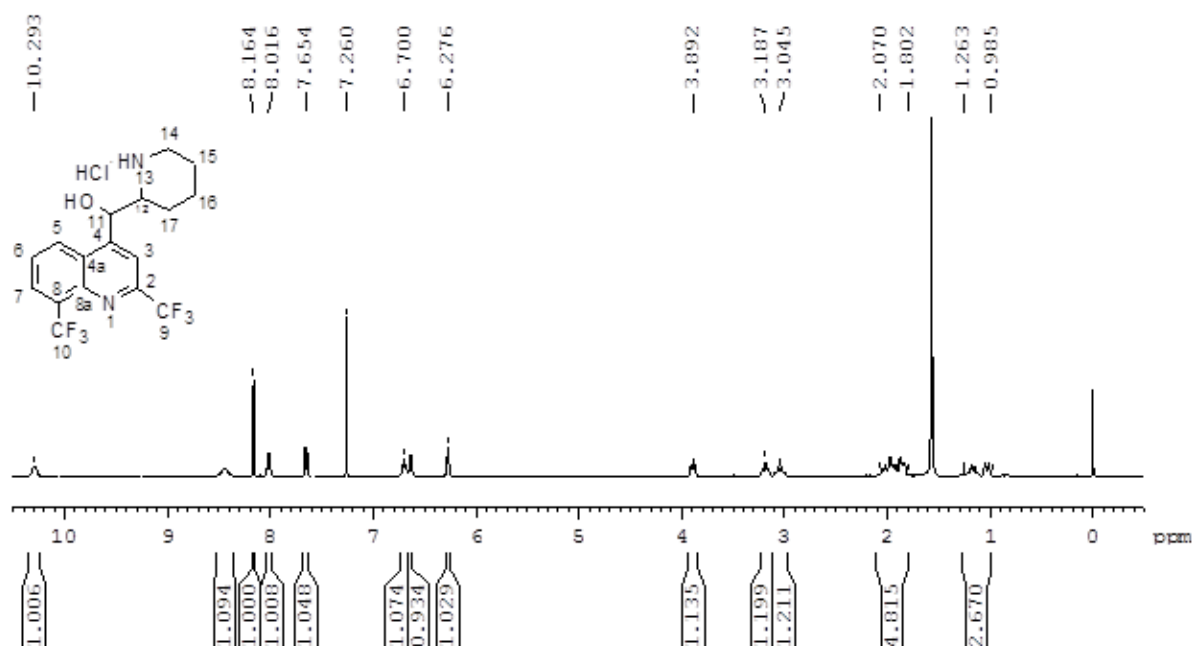
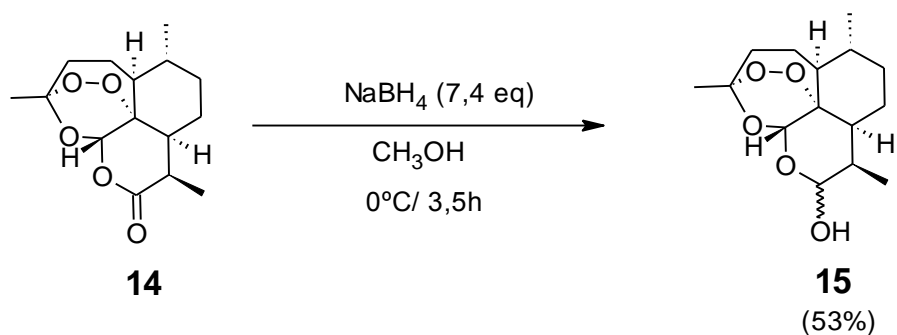


FIGURA 24 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200 MHz) DO CLORIDRATO DE MEFLUQUINA EM CDCl_3 A 30°C , CALIBRADO EM 0 ppm PELO TMS.

5.3. SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15)



ESQUEMA 17 – PARÂMETROS GERAIS PARA A SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA.

A dihidroartemisinina foi sintetizada utilizando as condições reacionais descritas por CAPELA (2011), com o intuito de se obter quantidade suficiente para seu isolamento e caracterização. Tais condições mostraram-se eficientes e a reação apresentou reprodutibilidade. O rendimento obtido foi de 53%.

O produto obtido a partir da reação foi submetido a testes de espectrometria de RMN de ^1H , ^{13}C (Figuras 25 e 26) e de espectroscopia na região do infravermelho. Os deslocamentos químicos obtidos em RMN são coincidentes com os descritos por CAPELA (2011). Através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foi possível confirmar que a dihidroartemisinina obtida é constituída por uma mistura de diastereoisômeros (α e β) na proporção aproximada de 1:1. Tal fato pode ser endossado pela duplicação dos sinais referentes aos hidrogênios H_{12} e H_{10} , indicando a presença de ambos os isômeros. O espectro de RMN de ^{13}C , de forma semelhante, também apresentou duplicação dos sinais referentes aos carbonos dos diastereoisômeros.

Por meio da análise do espectro de infravermelho (Figura 27), é possível verificar a ausência da banda de carbonila em 1733 cm^{-1} , com concomitante presença de uma banda na região de 3373 cm^{-1} , característica do grupo funcional hidroxila, o que corrobora a obtenção do composto desejado (**15**).

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 5,61 (s, 1H, H_{12} -isômero β); 5,39 (s, 1H, H_{12} -isômero α); 5,32 (d, 1H, $J = 3,1\text{ Hz}$, H_{10b}); 4,77 (d, 1H, $J = 9,2\text{ Hz}$, H_{10a}); 2,69–2,53 (m, 1H, H_9 -isômero β); 2,48–2,24 (m, 3H, H_9 -isômero α , H_{4a} -isômeros α e β); 2,11–2,02 (m, 2H); 1,97–1,47 (m, 12H); 1,43 (s, 3H, $\text{C}_6\text{-CH}_3$); 1,42 (s, 3H, $\text{C}_6\text{-CH}_3$); 1,36–1,21 (m, 4H); 0,98–0,91 (m, 14H). **RMN ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 104,4/104,1 (C_3 -isômeros α e β); 96,4/94,7 (C_{10} -isômeros α e β); 91,2/87,7 (C_{12} -isômeros α e β); 81,1/80,4 (C_{12a} -isômeros α e β); 52,5/51,5 (C_7 -isômeros α e β); 45,5/44,3 (C_{8a} -isômeros α e β); 37,4/37,3 (C_6 -isômeros α e β); 36,4/36,3 (C_4 -isômeros α e β); 34,8 (C_9 -isômero β); 34,7/34,2 (C_{5a} -isômeros α e β); 30,8 (C_9 -isômero α); 26,0/25,9 ($\text{C}_3\text{-CH}_3$ -isômeros α e β); 24,7/24,5 (C_5 -isômeros α e β); 24,6/22,1 (C_8 -isômeros α e β); 20,3/20,2 ($\text{C}_6\text{-CH}_3$ -isômeros α e β); 13,1/12,7 ($\text{C}_9\text{-CH}_3$ -isômeros α e β). **IV**, $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$ 3373 (estiramento O–H); 2924–2852 (estiramento CH_3); 1443 (dobramento CH_2); 1377 (dobramento CH_3); 1308–983 (estiramento C–O).

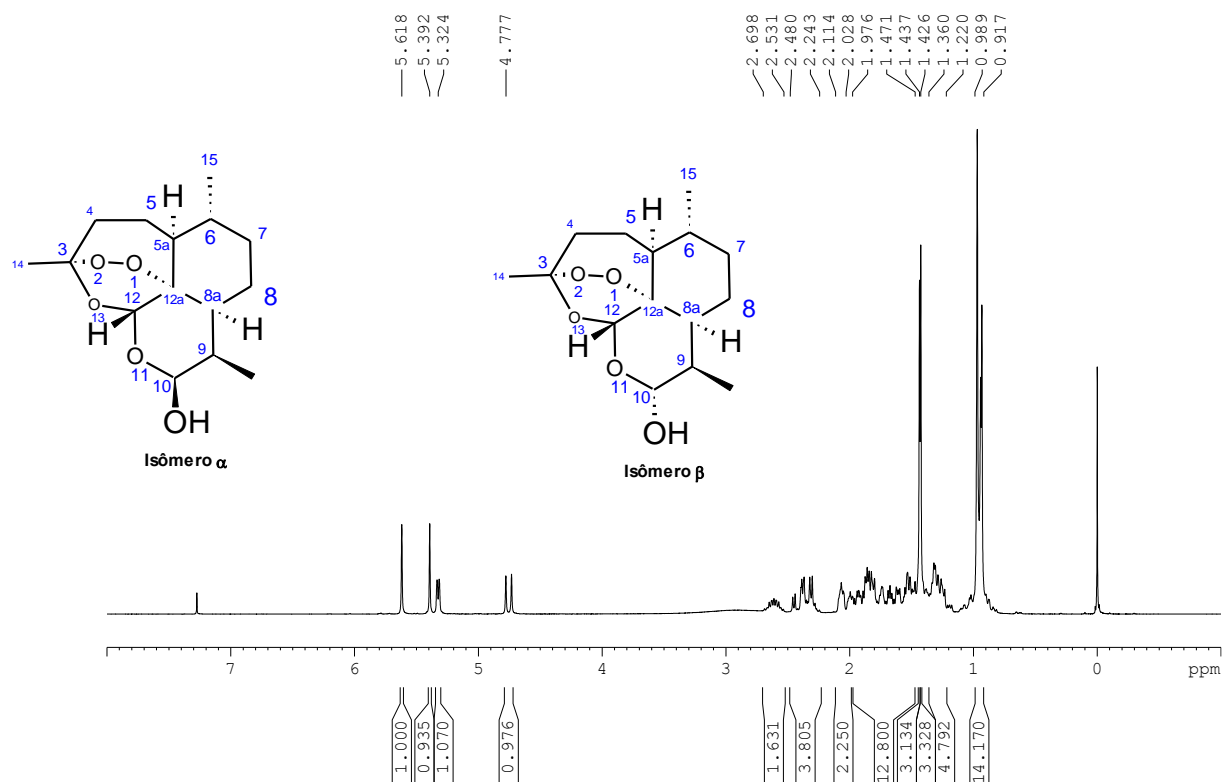


FIGURA 25 – ESPECTRO DE RMN DE ¹H (200 MHz) DA DIHIDROARTEMISININA EM CDCl₃ A 30°C, CALIBRADO EM 0 ppm PELO TMS.

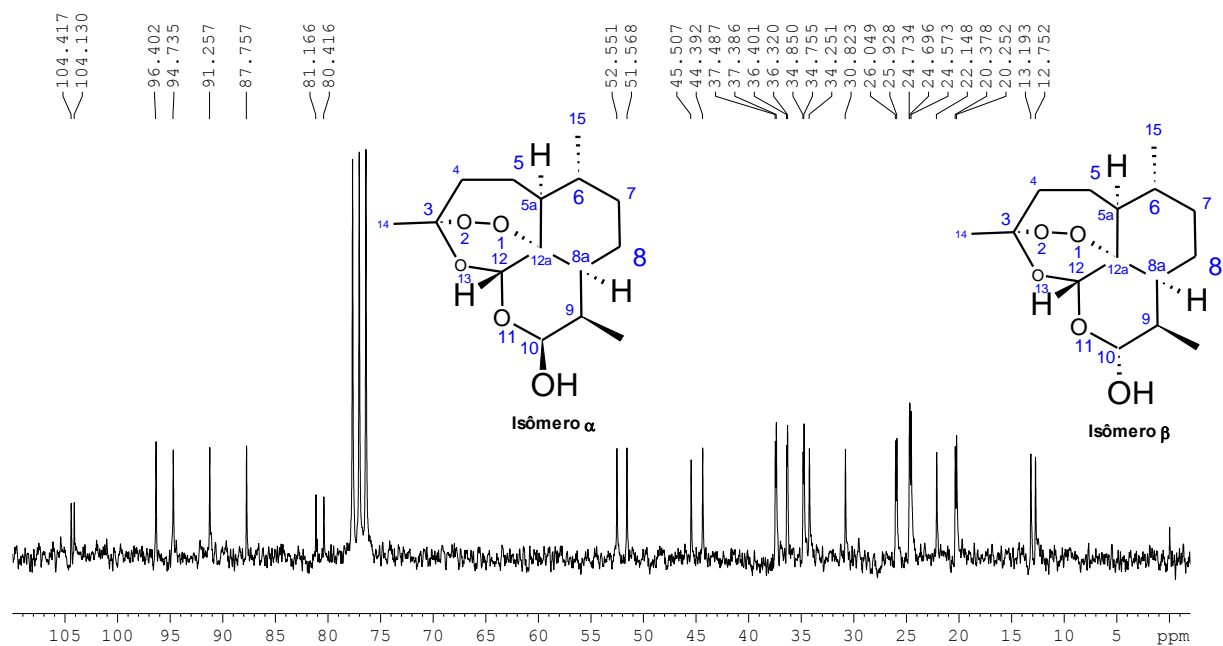


FIGURA 26 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³C (200 MHz) DA DIHIDROARTEMISININA EM CDCl₃ A 30°C, CALIBRADO EM 0 ppm PELO TMS.

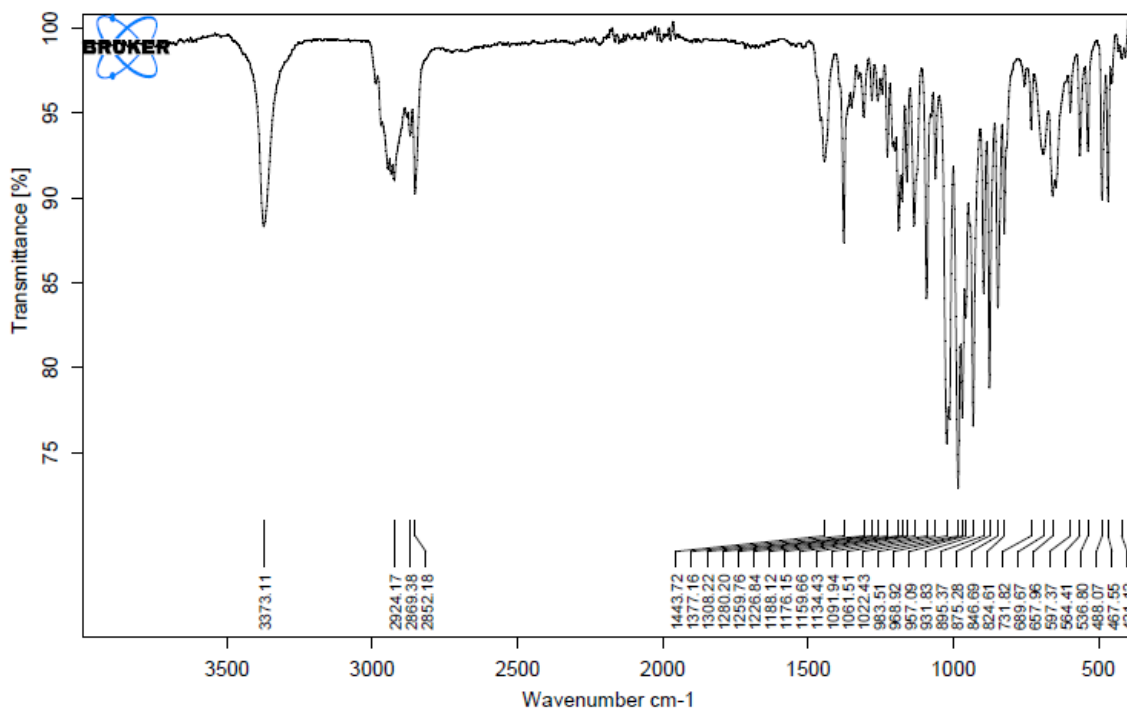
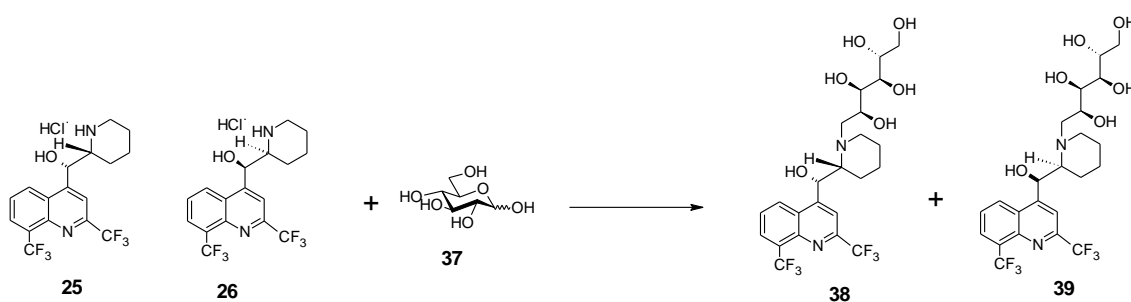


FIGURA 27 – ESPECTRO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO ADQUIRIDO PARA A DIHIDROARTEMISININA.

5.4. TENTATIVAS DE AMINAÇÃO REDUTIVA PARA FORMAÇÃO DO COMPOSTO **38** (Esquema 18)



ESQUEMA 18 – TENTATIVAS DE AMINAÇÃO REDUTIVA PARA FORMAÇÃO DOS COMPOSTOS **38** E **39**.

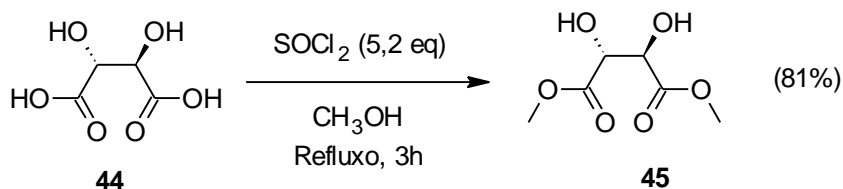
Diferentes condições e parâmetros reacionais foram avaliados na tentativa de se utilizar a D-glucose como grupo conector entre os antimaláricos focados neste estudo, por meio de reações de aminação redutiva com o cloridrato de mefloquina, na presença de hidretos metálicos, principalmente o agente redutor cianoborohidreto de sódio. A Tabela 1 apresenta as principais condições reacionais testadas seguindo adaptações de condições utilizadas por BORSCH *et. al* (1971). Não obteve-se, contudo, sucesso. Tentativas usando hidretos metálicos mais fortes, como o borohidreto de sódio (NaBH_4) e o hidreto de sódio (NaH) promoveram a redução da D-glucose ao seu alditol correspondente, glucitol.

Adaptações da metodologia descrita por MAGID *et al.* (1996) para aminações redutivas utilizando aminas fracamente alcalinas também foram testadas, mas sem resultados promissores (Tabela 2).

Diferentes hipóteses foram levantadas para se justificar a não ocorrência das reações de aminação redutiva em nenhuma das condições apresentadas nas Tabelas 1 e 2. Por se tratar de uma reação de aminação redutiva envolvendo um monossacarídeo em mutarrotação, é possível que haja limitações ocasionadas pela disposição da molécula de glucose, a qual apresenta-se em suas formas de cadeia fechada ou aberta no meio reacional. O equilíbrio entre essas formas pode ser um fator limitante à ocorrência da reação, visto que o grupo aldeído (o qual reage durante a aminação redutiva) do monossacarídeo não encontra-se 100% disponível para reagir. Além disso, alguns fatores limitantes podem ser também apontados na estrutura do anel piperidínico presente no cloridrato de mefloquina. Por se tratar de uma amina secundária, o produto esperado desse tipo de reação com a glucose seria uma amina terciária, algo não muito usualmente descrito na literatura. Pode-se ainda ressaltar o fato de que, quimicamente, há grupos próximos ao anel piperidínico que podem promover impedimento estérico sobre o sítio de ligação da reação, o que dificultaria ainda mais a aminação redutiva.

Diante do quadro de insucesso encontrado após as tentativas de realização da reação de aminação redutiva, optou-se por dar enfoque à segunda rota sintética delineada (Esquema 8), utilizando o ácido L-(+)-tartárico como grupo conector. As etapas reacionais envolvidas para essa segunda rota sintética delineada são apresentadas a partir do item 5.5.

5.5. SÍNTESE DO (2R,3R)-2,3-DIHIDROXIBUTANODIATO DE DIMETILA (**45**)



ESQUEMA 19 - SÍNTESE DO COMPOSTO **45**.

A esterificação do ácido L-(+)-tartárico ao composto **45** foi realizada conforme KIM *et al.* (2001). A metodologia é descrita na seção de Anexos. A reação se processa com a ativação *in situ* do ácido carboxílico para obtenção do cloreto de ácido correspondente, pela reação com cloreto de tionila. A alta reatividade do cloreto de ácido permite o ataque nucleofílico de moléculas de metanol sobre o carbono carbonílico, com formação do éster **45** com melhores rendimentos.

O derivado **45** foi obtido com rendimento médio de 81%.

O produto foi analisado por espectrometria de RMN de ^1H e seus sinais condizem aos dados da literatura. O espectro está representado na Figura 28.

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 4,50 (s, 2H); 3,79 (s, 6H).

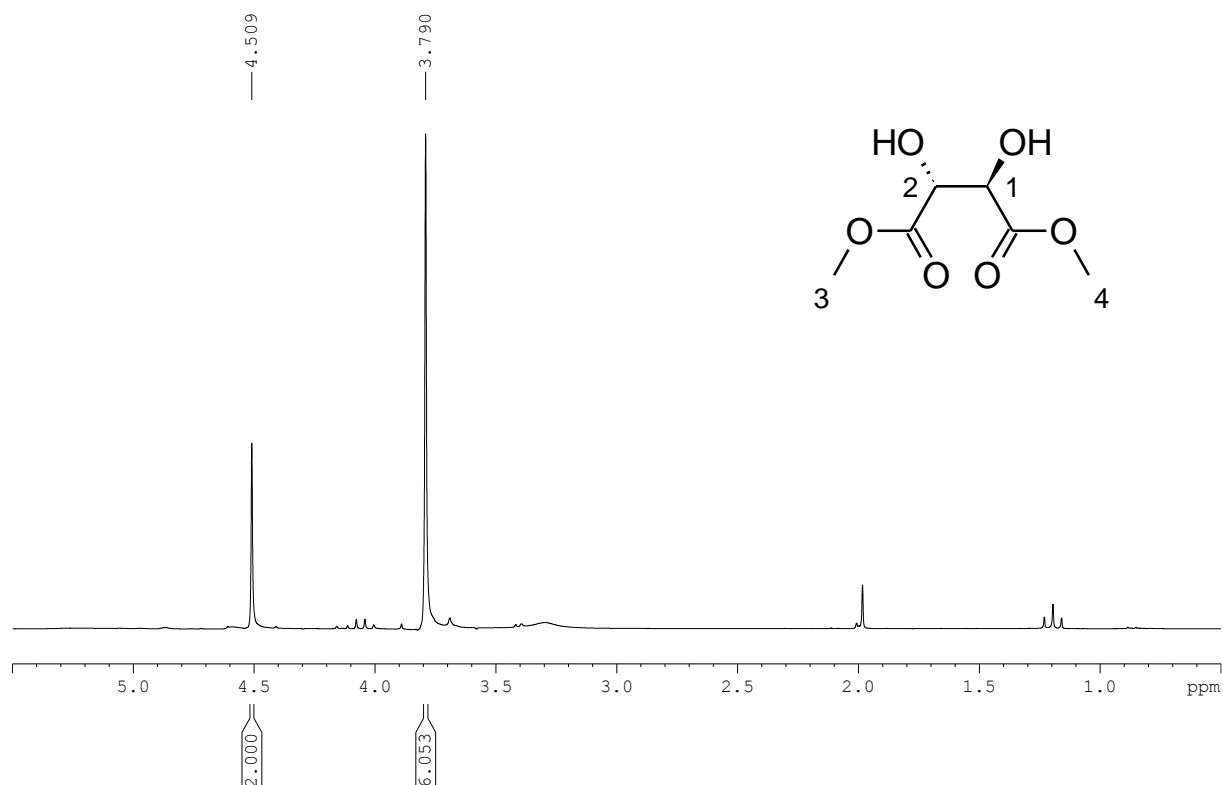
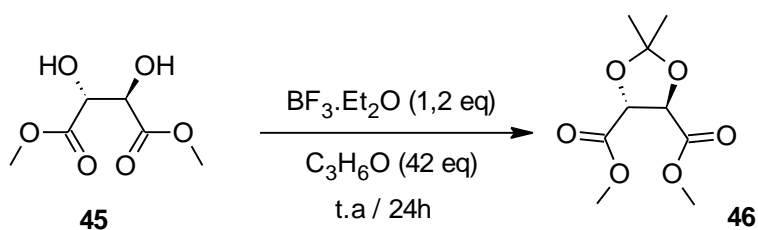


FIGURA 28 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200 MHz) REFERENTE AO COMPOSTO **45** EM CDCl_3 A 30°C , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS (os sinais em 1,20 ppm e 1,98 ppm correspondem ao acetato de etila residual decorrente do processo de *workup*).

5.6. SÍNTESE DO (4R,5R)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXILATO DE DIMETILA (**46**)



ESQUEMA 20 – CONDIÇÕES GERAIS PARA A SÍNTESE DE **46**.

A obtenção do composto **46** apresentou algumas dificuldades, sendo necessários testes em diferentes condições reacionais, como pode ser observado na Tabela 3.

TABELA 3 – CONDIÇÕES UTILIZADAS PARA A SÍNTESE DO DERIVADO **46**.

Condições Testadas								
Reação	Acetona (mL)	PTSA (meq)	DMP (eq)	BF ₃ .Et ₂ O (eq)	Temperatura (°C)	Atmosfera	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	5,2	37	2,7	-	65-70	-	5	-
2	5,2	37	2,7	-	65-70	Argônio	5	-
3	-	37	4,1	-	65-70	-	7,5	-
4	4,3	-	-	0,6	T.A	Argônio	12	6
5	4,3	-	-	0,6	T.A	Argônio	24	24
6	4,3	-	-	0,6	65-70	Argônio	3	-
7	8,6	-	-	1,2	T.A	Argônio	24	45

As reações realizadas em presença dos reagentes 2,2-dimetoxipropano (DMP) e ácido *p*-toluenossulfônico (PTSA), reagentes comumente empregados neste tipo de reação de proteção de grupos funcionais, não apresentaram indícios de formação do produto esperado, frente a análises por CCD e espectrometria de RMN. Um estudo conduzido por DINDAROĞLU *et al.*, 2014, descreveu a utilização do ácido BF₃.Et₂O para a proteção de **45**, em presença de acetona e em atmosfera inerte. A reação, realizada sob tais condições, evidenciou por meio da análise por CCD o consumo de **45** com concomitante formação de um produto após monitoramento contínuo por 8 horas da reação. Após 12 horas de reação, seguindo-

se de purificação em coluna cromatográfica, o rendimento da reação apresentou-se baixo (6%). Em um tempo de 24 horas, o rendimento obtido para a reação foi de 24%. (A metodologia completa se encontra na seção de Anexos).

Considerando-se que um dos fatores limitantes verificado para o aumento do rendimento da reação foi a quantidade de material inicial remanescente no meio reacional (fato indicado através da CCD), foi considerada a possibilidade de se aumentar em proporção as quantidades de acetona e de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, sem alteração da quantidade de tartarato de dimetila. Uma reação foi conduzida, dobrando-se tais proporções. Verificou-se um aumento do rendimento para 45%.

O material obtido foi analisado por espectrometria de RMN de ^1H e ^{13}C , e seus deslocamentos químicos e integrações coincidiram com os descritos na literatura (DINDAROĞLU *et al.*, 2014). Para o RMN de ^{13}C , o sinal descrito em 76,8 ppm (referente a C_3) foi sobreposto pelo sinal do solvente.

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 4,81 (s, 2H, H_3); 3,83 (s, 6H, H_5); 1,49 (s, 6H, H_1). **RMN ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 170,0 (C_4); 113,8 (C_2); 76,8 (C_3 – sobreposto pelo sinal do solvente); 52,7 (C_5); 26,2 (C_1).

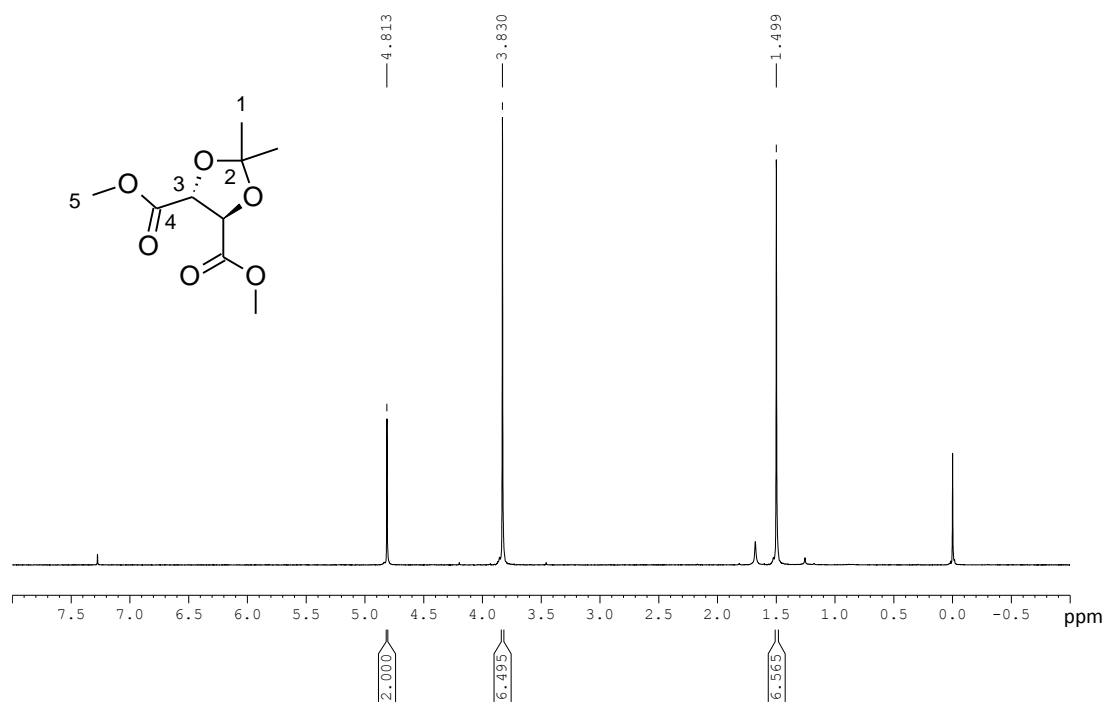


FIGURA 29 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200 MHz) REFERENTE AO COMPOSTO **46** EM CDCl_3 A 30°C, CALBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

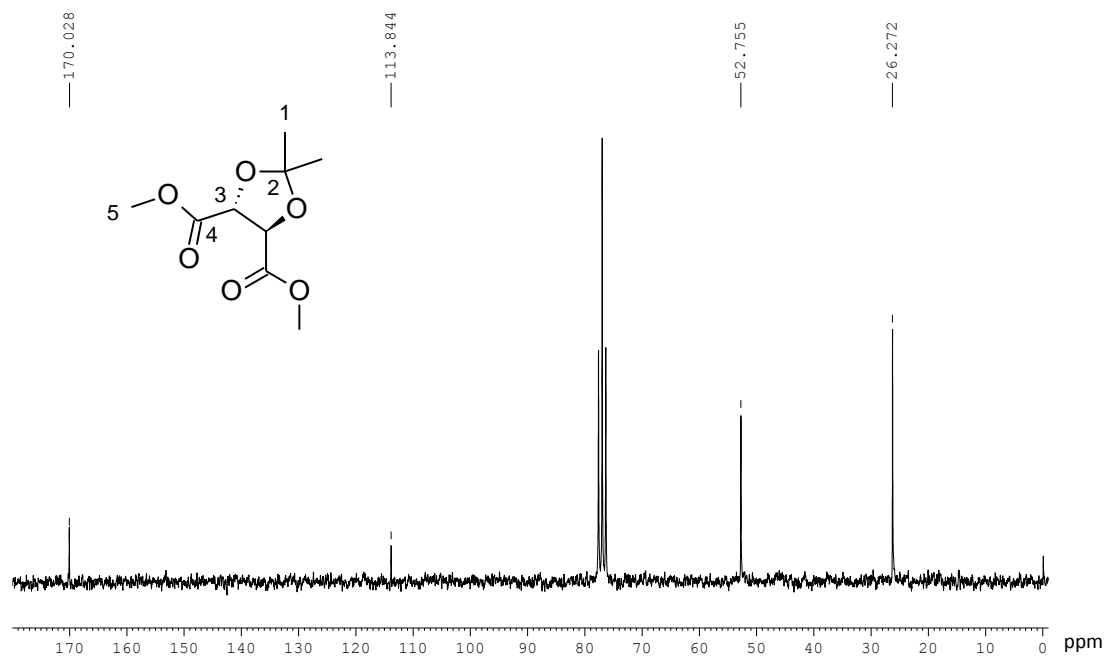
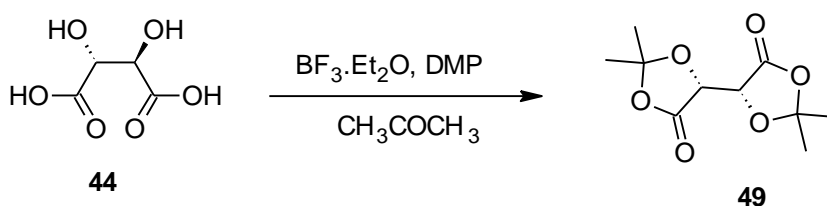


FIGURA 30 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C (200 MHz) REFERENTE AO COMPOSTO **46** EM CDCl_3 A 30°C, CALBRADO EM 0 PPM PELO TMS (76,9 ppm: CDCl_3).

5.7. SÍNTESE DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-5-(METOXCARBONIL)-2,2 DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**48**)

A metodologia utilizada para a formação do produto **46** foi avaliada também frente à viabilidade de se proteger diretamente as hidroxilas vicinais do ácido tartárico, sem a necessidade de se realizar a esterificação prévia de seus grupos carboxila.

Utilizando-se as mesmas condições reacionais empregadas na síntese do produto **46**, verificou-se por CCD o consumo do ácido tartárico, e a formação de um produto. Acreditou-se inicialmente que o produto obtido, e purificado por meio de coluna cromatográfica, tratava-se do composto **47**. Por meio de sua análise espectroscópica, contudo, foram encontrados indícios de que se tratava do derivado duplamente protegido com o grupo isopropilideno: (4*R*,4'*R*)-2,2,2',2'-tetrametil-4,4'-bi-1,3-dioxolano-5,5'-diona (**49**) (Esquema 21). ZHU e colaboradores descreveram em 2007 a formação de grandes quantidades deste tipo de composto na reação com acetona, DMP e BF₃.Et₂O, com verificação de apenas pequenos traços de **47**.



ESQUEMA 21 – FORMAÇÃO DO COMPOSTO (4*R*,4'*R*)-2,2,2',2'-TETRAMETIL-4,4'-BI-1,3-DIOXOLANO-5,5'-DIONA (**49**).

RMN ¹H (CDCl₃) δ (ppm) 4,82 (s, 2H); 1,66 (s, 6H, H₅); 1,59 (s, 6H).

RMN ¹³C (CDCl₃) δ (ppm) 169,0; 112,2; 73,5; 26,7.

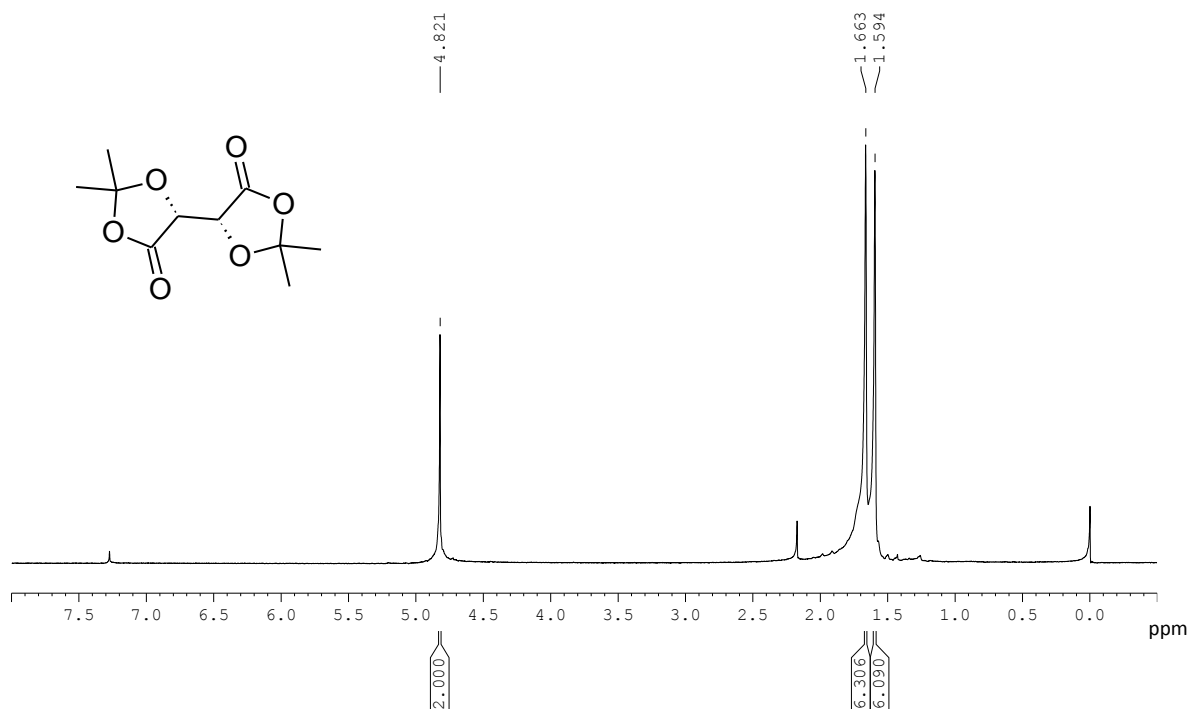


FIGURA 31 – ESPECTRO DE RMN DE ¹H (200 MHz) REFERENTE AO COMPOSTO **49** EM CDCl₃ A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

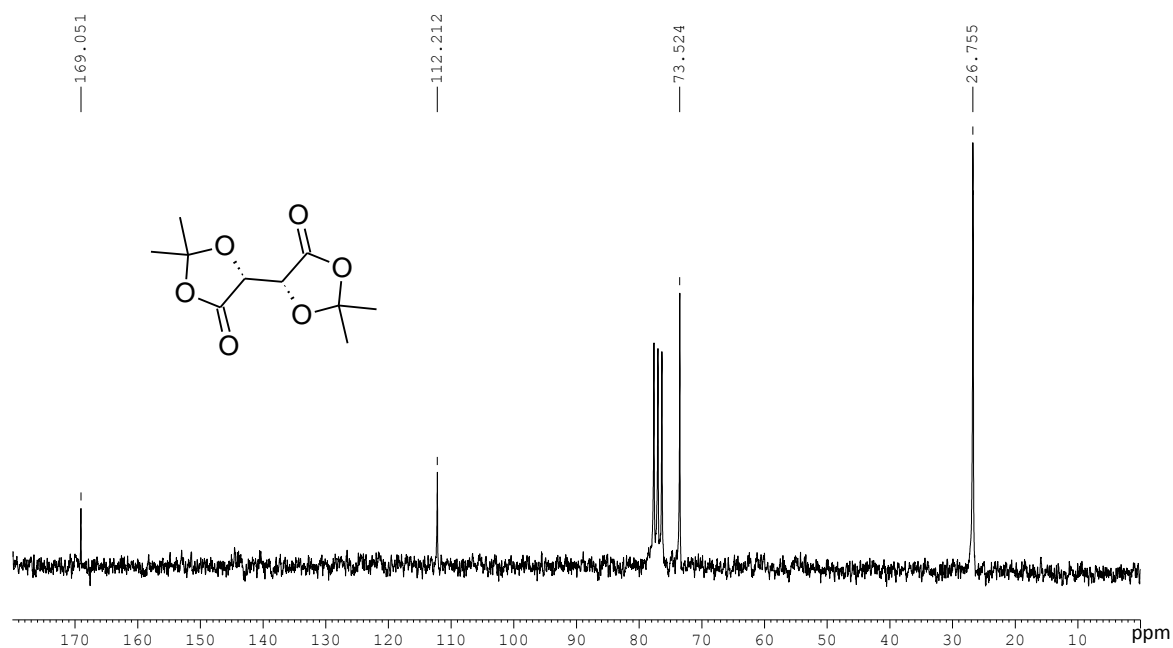
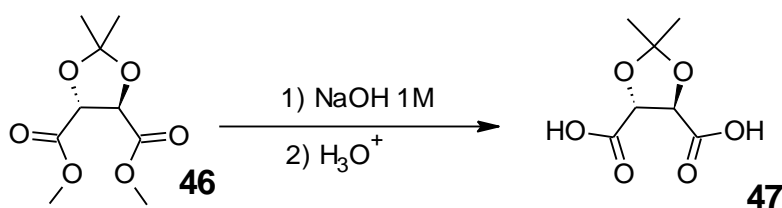


FIGURA 32 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³C (200 MHz) REFERENTE AO COMPOSTO **49** EM CDCl₃ A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

A realização da reação descrita no Esquema 21, com verificação da formação do produto **49**, foi um ponto expressivo para a constatação da importância de proteger previamente os grupos carboxilas do ácido L-(+)-tartárico. Com base em tal constatação, optou-se por se voltar a abordagem de obtenção dos ácidos carboxílicos após a proteção dos grupos hidroxila pela estratégia de hidrólise dos grupos ésteres do composto **46**.

A metodologia tentada envolveu duas etapas: a hidrólise em meio alcalino dos grupamentos metil-éster, com formação do sal sódico correspondente, e a protonação do sal em meio ácido, para obtenção do ácido (4*R*,5*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4,5-dicarboxílico (**47**) (Esquema 22).



ESQUEMA 22 – ETAPAS DA REAÇÃO DE OBTENÇÃO DE **47**.

Diferentes variações das condições reacionais e de *workup* em meio ácido foram avaliadas, a fim de se determinarem as melhores variáveis para otimização da reação de hidrólise. Tais condições são apresentadas na Tabela 4. O monitoramento de todas as condições de hidrólise testadas por CCD indicou o consumo do reagente **46** ($R_f \sim 0,4$), com a formação de um produto com $R_f \sim 0,1$ (MeOH/AcOEt 1:1). Os meios reacionais e produtos de purificação foram analisados por meio de espectrometria de RMN de ^1H , tendo-se como referência os sinais descritos por DINDAROGLU *et al.* (2014) para o composto de interesse.

TABELA 4 – CONDIÇÕES AVALIADAS PARA A SÍNTESE DO DERIVADO 47.

Reação	Condições Testadas				
	NaOH (eq)	Solvente	Tempo (h)	H ₃ O ⁺	Temperatura (°C)
1	2,2	Etanol	2	Resina	T.A
2	2,2	Etanol	2	Resina	40
3	2,2	Etanol	2	Resina	80
4	2,2	Etanol	0,25	Resina	80
5	2,2	H ₂ O	2	Resina	T.A
6	2,2	H ₂ O	2	Resina	40
7	3,0	H ₂ O	2	Resina	T.A
8	3,0	H ₂ O	0,25	Resina	40
9	3,0	H ₂ O	0,25	Resina	80
10	3,0	H ₂ O	0,15	HCl 1M	40
11	3,0	H ₂ O	0,15	HCl 1M	40
12	3,0	H ₂ O	0,10	HCl 1M	40

De modo diferente dos resultados verificados por CCD, não foi verificada reprodutibilidade nos indícios da formação do produto visado através da análise dos espectros de RMN de ¹H de diferentes condições. Os sinais de deslocamento químico esperados próximos a 4,88 ppm (s) e 1,53 ppm (s) não foram verificados nos espectros de RMN de ¹H após a reprodução de muitas das condições testadas. Foi levantada a hipótese de que esses problemas fossem oriundos de

irregularidades na etapa de protonação com a resina catiônica ativada com íons H_3O^+ . A maioria das condições testadas envolvendo essa metodologia de protonação apresentou espectros de RMN de ^1H bastante heterogêneos, sem padrão dos sinais e com muitos sinais adicionais, o que passou a sugerir que o uso da resina catiônica como método de protonação poderia degradar o produto, além de agregar grande taxa de impurezas ao material coletado. Dessa forma, optou-se por testar a protonação por meio da adição bastante lenta de HCl 1M, a 0°C .

O produto de reação obtido pela condição 12 da Tabela 4 apresentou um espectro de RMN de ^1H com os valores de deslocamento químico e integração condizentes com o produto esperado (Figura 33). Foram verificados alguns sinais adicionais, referentes a possíveis impurezas e materiais de degradação remanescentes ao produto após a metodologia de workup. A fim de se resolver tal problema, procedeu-se a purificação do material em coluna cromatográfica. No entanto, a análise dos espectros de RMN de ^1H do material coletado indicou ausência dos sinais referentes ao produto **47**. Diferentes hipóteses foram levantadas acerca do ocorrido, sendo endossada a possibilidade de retirada do grupo protetor isopropilideno frente às condições de purificação. Para se fortalecer tal suposição, a condição 12 foi reproduzida em maior escala, e o produto de coluna cromatográfica analisado por RMN, verificando-se novamente ausência dos sinais de deslocamentos químicos referentes ao composto **47**.

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 4,90 (s, 2H, H_3); 1,51 (s, 6H, H_1).

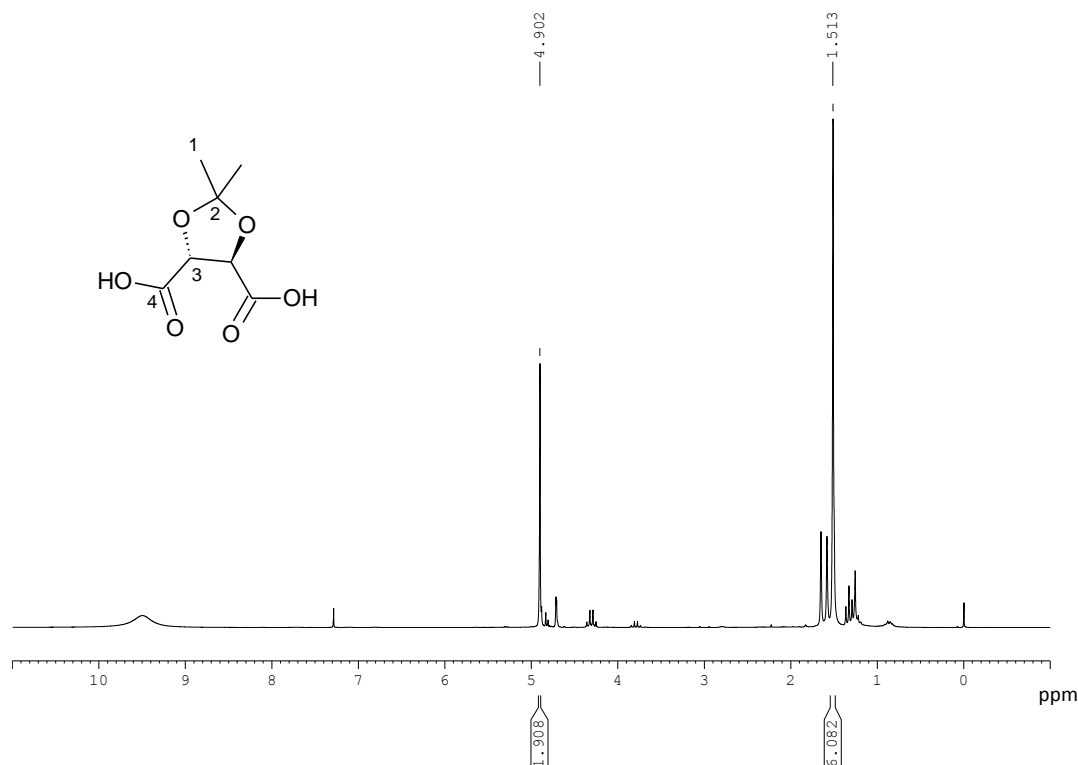
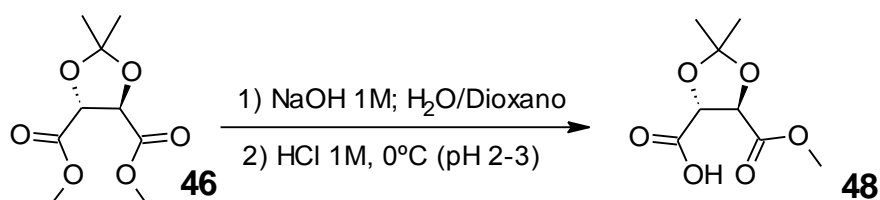


FIGURA 33 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200 MHz) DO COMPOSTO **47** (IMPURO). ESPECTRO OBTIDO EM CDCl_3 A 30°C , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

Por meio dessa série de experimentos, é possível propor a ocorrência da hidrólise do material **46** a **47**, mas as dificuldades encontradas em processos de purificação e isolamento não tornaram possível a obtenção do produto em quantidade e grau de pureza satisfatórios para caracterização e utilização em etapas seguintes da rota sintética, em função da instabilidade do grupo isopropilideno frente ao *workup* da reação e ao processo de purificação por coluna cromatográfica, bem como a possibilidade de clivagem do grupo protetor frente aos ácidos utilizados na etapa de protonação. Foi levantada também a possibilidade de a clivagem do grupo isopropilideno ser também facilitada pelos dois grupos carboxílicos presentes na molécula do composto **47**.

Passou-se a considerar a possibilidade de obtenção de um produto de hidrólise parcial do composto **46** (Esquema 22), a fim de se avaliar sua estabilidade e facilidade de obtenção. A hidrólise foi realizada conforme descrito por SONG *et al.* (2009), utilizando-se 1 equivalente de NaOH 1M em um sistema 1:1 de água

destilada e dioxano. A etapa referente à protonação do sal sódico foi realizada com HCl 1M. O procedimento detalhado encontra-se na sessão de Anexos.



ESQUEMA 23 – HIDRÓLISE PARCIAL DE **46** PARA A FORMAÇÃO DE **48**.

Os testes reacionais para a hidrólise parcial do composto **46** foram monitorados por CCD, verificando-se a formação de um produto com $R_f \sim 0,3$ (fase móvel: MeOH/AcOet 1:1), podendo ser o produto visado. Observou-se também a formação de um produto com R_f próximo a 0,1, indicando a formação minoritária do produto de hidrólise total do composto **46**. A mistura oriunda da etapa de protonação com HCl 1M, e coletado após o *workup* da reação foi analisado por espectrometria de RMN de ^1H (Figura 34), e seus sinais de deslocamento químico comparados frente aos dados disponíveis na literatura.

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 4,88 (*d*, 1H, $J = 5,4$ Hz, H_4); 4,82 (*d*, 1H, $J = 5,4$ Hz, H_5); 3,84 (*s*, 3H, H_7); 1,52 (*s*, 3H, H_1); 1,50 (*s*, 3H, H_2).

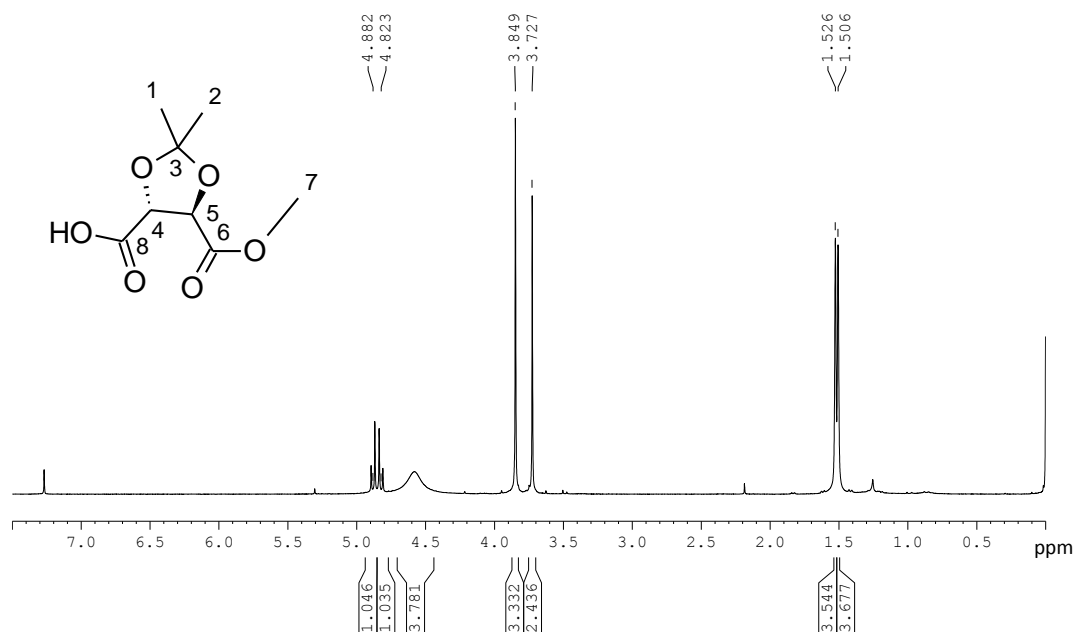


FIGURA 34 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200 MHz) REFERENTE AO PRODUTO **48** (IMPURO). ESPECTRO OBTIDO EM CDCl_3 A 30°C , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

O espectro da Figura 34 apresentou os sinais de deslocamento químico pertinentes com os descritos na literatura para o composto **48**, entretanto pode-se verificar a presença de dois sinais excedentes, respectivamente em 4,58 ppm e 3,72 ppm. Acreditando-se que tais sinais pudessem ser decorrentes de impurezas remanescentes após o workup da reação, optou-se por se repetir a hidrólise parcial em maior escala, de modo a se obter quantidade de material suficiente para se proceder a purificação por coluna cromatográfica. O material obtido da reação foi eluído inicialmente em coluna de sílica (fase móvel: éter de petróleo/AcOEt 5:1, e em seguida em AcOEt), para a obtenção de uma amostra analisada por RMN de ^1H . O espectro obtido não apresentou mais os sinais excedentes verificados anteriormente, o que corroborou os indícios de formação e obtenção do composto **48** em uma forma de maior pureza (Rendimento: 40%). (Figura 35).

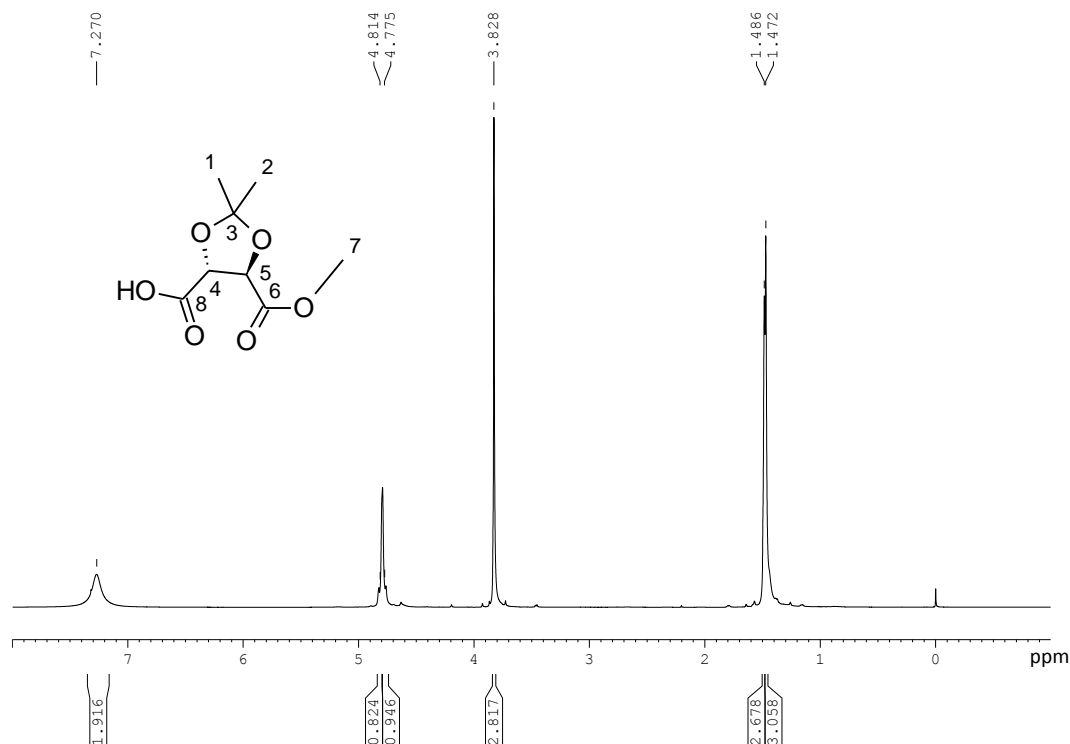


FIGURA 35 –. ESPECTRO DE RMN DE ¹H (200 MHz) OBTIDO EM CDCl₃ PARA O COMPOSTO **48**, A 30°C, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

Também foi possível verificar a presença de um sinal em 7,27 ppm (*br*), sobreposto ao sinal do solvente. Tal sinal é descrito na literatura como referente ao hidrogênio do grupo carboxila, podendo estar ou não presente no espectro para o composto **48**, entre 7,00 e 9,70 ppm.

É importante destacar que a metodologia adotada para a hidrólise parcial do composto **46** foi testada em paralelo com a obtenção do composto totalmente hidrolisado, **47**. Isso foi feito tendo-se em vista que mesmo a reação de hidrólise parcial formava uma pequena fração do composto **47**, mas que não era mais detectável por CCD após a filtração dos produtos de reação em Na₂SO₄ anidro. Para se realizar a hidrólise total em condições similares à hidrólise parcial, mantiveram-se as proporções de solvente e **46** pré-estabelecidas, utilizando-se dois equivalentes de NaOH. As análises por CCD indicaram o consumo do reagente **46** e a formação do composto com R_f ~ 0,1, sem a verificação da mancha correspondente ao produto parcialmente hidrolisado. A protonação do sal sódico foi realizada com HCl 1M. Após

a etapa de secagem com Na_2SO_4 anidro, contudo, o produto não foi mais visualizado por CCD, o que sugeriu a hipótese de sua adsorção no sal inorgânico.

Desta maneira, avaliou-se que o composto **48** foi isolado e caracterizado de forma eficiente, mas o composto **47** apresentou diversas dificuldades oriundas de seus processos de isolamento, purificação e estabilidade, além de caracterização. Outro ponto importante de se destacar é que considerando-se a conjugação dos fármacos antimaláricos a partir do composto **48**, desenvolveu-se a necessidade de que, para a formação dos compostos multifuncionais, as reações envolvendo a associação do cloridrato de mefloquina passassem a ser efetuadas antes da associação do composto **48** à dihidroartemisinina. Essa escolha se deve ao fato de que, caso esta fosse associada previamente ao grupo conector por meio de uma ligação do tipo éster, as reações envolvendo a conjugação do cloridrato de mefloquina poderiam sujeitar a quebra dessa ligação. Por outro lado, a conjugação do cloridrato de mefloquina ao composto **48** por meio de uma ligação do tipo amida é menos à lábil frente às condições testadas para a associação da dihidroartemisinina, justificando a necessidade de estabelecer uma ordem específica de conjugação dos fármacos antimaláricos ao grupo conector no caso da formação de um DML. No entanto, tentativas de associação da dihidroartemisinina ao composto **48** sem a prévia ligação da mefloquina para obtenção de DMLs foram ainda assim realizadas, sem a fim de se avaliar as condições para a ocorrência da ligação, além de se tratar de um composto útil para possíveis estudos futuros na área.

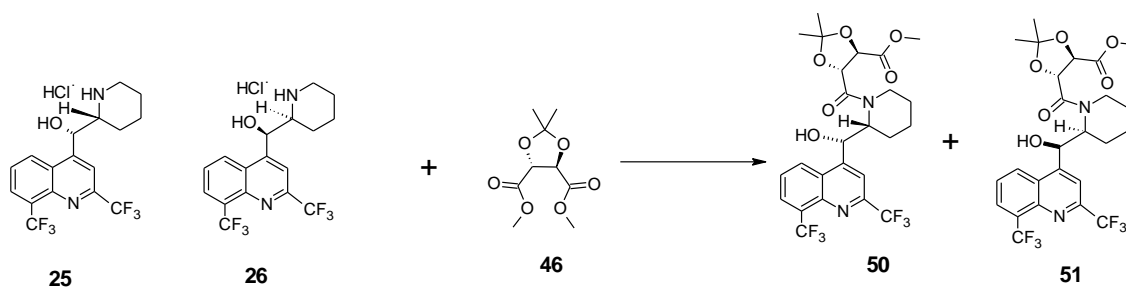
A partir da formação do material **48**, portanto, dois tipos de reações foram testados:

a) A associação da dihidroartemisinina a **48**, visando à formação do conjugado correspondente.

b) A associação do cloridrato de mefloquina a **48**, visando à formação dos conjugados a serem utilizados para a síntese de DMLs.

5.8. SÍNTESE DOS DIASTEREISÔMEROS (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{{(*S*)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL][(2'*R*)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO DE METILA (**50**); E (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{{(*R*)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL][(2'*S*)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO DE METILA (**51**)

Os testes iniciais para a formação dos compostos **50** e **51** visaram à associação direta dos enantiômeros **25** e **26** ao composto **46**, pelo meio de reações de aminólise de éster, como representado no Esquema 24.



ESQUEMA 24 – REAÇÃO DE AMINÓLISE DE ÉSTER ESQUEMATIZADA ENTRE **25**, **26** E **46** PARA OBTENÇÃO DE **50** E **51**.

Diferentes variações de condições reacionais foram testadas para as reações de aminólise do éster metílico. Inicialmente foi montado um sistema utilizando piridina como solvente, visto que seu caráter alcalino poderia favorecer a ocorrência da reação. A Tabela 5 apresenta essa primeira bateria de reações.

TABELA 5 – CONDIÇÕES AVALIADAS PARA AMINÓLISE DO ÉSTER METÍLICO DO DERIVADO **46** PELA MEFLOQUINA-HCl EM PIRIDINA COMO SISTEMA-SOLVENTE.

Condições Testadas							
Reação	Mefloquina-HCl (eq)	Composto 46 (eq)	Tempo (h)	Piridina (mL)	Temperatura (°C)	Base usada	Base (eq)
1	1	1	4	1	T.A	-	-
2	1	1	24	1	TA	-	-
3	1	1	4	1	30	-	-
4	1	1	2	1	70	-	-
5	1	1	2	1	115	-	-
6	1	2	2	1	TA	TEA	1
7	1	2	2	1	30	TEA	1
8	1	2	2	1	70	TEA	1
9	1	2	1	1	115	TEA	1

Todas as condições reacionais apresentadas na Tabela 5 foram periodicamente monitoradas via CCD (fase móvel: DCM/MeOH/CH₃COOH 20:1:1), com visualização das manchas em câmara de ultravioleta, e com o uso de uma solução de orcinol em uma solução etanólica a 20% de ácido sulfúrico como agente revelador. Utilizaram-se padrões de cloridrato de mefloquina e do diéster **46** para critérios comparativos. Em nenhum dos casos foi verificada alteração no padrão de CCD frente aos padrões, o que indicou a não ocorrência da reação esperada. Questionou-se então se a natureza do meio alcalino utilizado até então era suficientemente forte para favorecer o ataque nucleofílico do nitrogênio do anel piperidínico da mefloquina sobre o carbono carbonílico do composto **46**. Dados da

literatura apresentados por MATSUMURA e colaboradores (2000) descreveram a formação de ureias assimétricas por meio da aminólise entre aminas alquilcarboniladas e piperidinas, na presença de hidreto de sódio (NaH). Com base nisso, algumas condições foram elaboradas adaptando-se a metodologia descrita pelos autores, de modo a se verificar a viabilidade desses princípios à aminólise planejada. Utilizaram-se em algumas condições agentes análogos ao NaH, como o borohidreto de sódio (NaBH_4) e o cianoborohidreto de sódio (NaBH_3CN) (Tabela 6).

As reações conduzidas na presença de NaH não apresentaram indícios do consumo de **46** ou do cloridrato de mefloquina, assim como para as condições utilizando NaBH_3CN . As reações realizadas com o uso de NaBH_4 , por outro lado (condições 5 e 6 da Tabela 6), apresentaram indícios do desaparecimento do composto **46**, com a verificação de uma nova mancha revelada no orcinol, com R_f muito próximo ao do cloridrato de mefloquina, visualizado em câmara de ultravioleta ($\sim 0,5$). Alterações nas proporções de **46** e NaBH_4 visaram ao excesso de ambos os reagentes em relação ao sal de mefloquina, com o objetivo de se aumentar o rendimento reacional. Optou-se também por se alterar o solvente das reações para metanol a fim de se melhorar a solubilidade do cloridrato de mefloquina no sistema. A condição 11 apresentada na Tabela 6 representa a reação com a melhor visualização da mancha acima referido pelas análises de CCD.

TABELA 6 – CONDIÇÕES TESTADAS PARA A AMINÓLISE DO ÉSTER METÍLICO DO DERIVADO **46** PELA MEFLOQUINA·HCl UTILIZANDO HIDRETOS METÁLICOS.

Condições Testadas								
Reação	Mefloquina·HCl (eq)	Composto 46 (eq)	NaH (eq)	NaBH ₄ (eq)	NaBH ₃ CN (eq)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Solvente
1	1	1	1,1	-	-	2	TA	THF
2	1	1	1,1	-	-	4	TA	THF
3	1	1	1,1	-	-	8	TA	THF
4	1	1	1,1	-	-	2	66	THF
5	1	1	-	1,1	-	4	TA	THF
6	1	1	-	1,1	-	2	66	THF
7	1	1	-	-	1,1	4	TA	THF
8	1	1	-	-	1,1	2	66	THF
9	1	1	-	1,4	-	8	TA	CH ₃ OH
10	1	1,4	-	1,4	-	24	65	CH ₃ OH
11	1	1,4	-	1,4	-	5	65	CH ₃ OH

A purificação do material oriundo da reação número 11 reação em coluna de sílica (fase móvel: DCM/CH₃OH/CH₃COOH 20:1:1) evidenciou a presença de três diferentes frações do spot visualizado durante a reação, com valores de R_f muito próximos. Foi possível separar tais frações por meio da cromatografia, e estas foram submetidas a análises de espectroscopia de RMN de ¹H e de espectrometria de massas.

Os espectros de RMN de ¹H em CDCl₃ referentes às três frações obtidas não apresentaram sinais em deslocamentos químicos condizentes com um produto de associação entre o éster **46** e o cloridrato de mefloquina. Não foi possível se

observar os sinais característicos dos hidrogênios aromáticos do anel quinolínico, o que sugeriu que o material visualizado por estes espectros de RMN seja oriundo de alguma modificação no composto **46**. De fato, ao se avaliarem as três frações de modo comparativo, foi possível verificar que os valores de deslocamento químico presentes foram compatíveis com os do produto **48**, gerado a partir da hidrólise parcial de **46**. Isso levou à conclusão de que o meio alcalino gerado no meio reacional não favoreceu a reação de aminólise, e sim a hidrólise parcial de **46**. O espectro de RMN de ^1H para uma das frações analisadas é apresentado abaixo, na Figura 36.

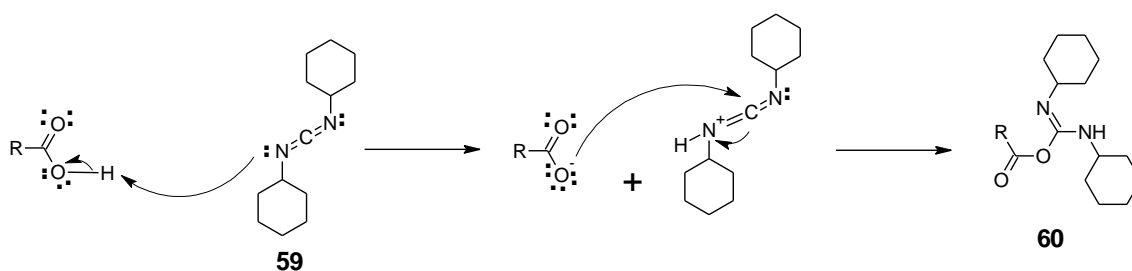
Com base em tais resultados, passou-se a uma outra abordagem para a formação dos conjugados **50** e **51**, por meio de reações de amidação entre **25**, **26** e os grupos conectores. As reações inicialmente testadas objetivaram a direta associação entre os enantiômeros do cloridrato de mefloquina e o ácido L-(+)-tartárico, utilizando-se diciclohexilcarbodiimida (DCC) (**59**) como agente ativante do ácido carboxílico, e meio alcalino promovido pela adição de TEA. Não verificou-se, contudo, a formação de quaisquer produtos de associação.

Os testes seguintes visaram à síntese de **50** e **51** por meio de reações de amidação entre **25**, **26** e **48**, também com o uso de DCC e TEA (Esquema 25). A tabela 07 apresenta as principais condições testadas para essa reação.

É importante atentar-se ao mecanismo de reações de esterificação e amidação com o uso de ácidos carboxílicos na presença de carbodiimidas como o DCC. Visto que as hidroxilas carboxílicas não constituem grupos abandonadores eficientes, o uso do DCC visa à ativação dos ácidos em intermediários de reatividade próxima à de anidridos, chamados O-acilisoureias (**60**) (Esquema 26). (NEISES; STEGLICH, 1978).

TABELA 7 – CONDIÇÕES AVALIADAS PARA REAÇÕES DE AMIDAÇÃO ENTRE **25**, **26** E O DERIVADO **48**.

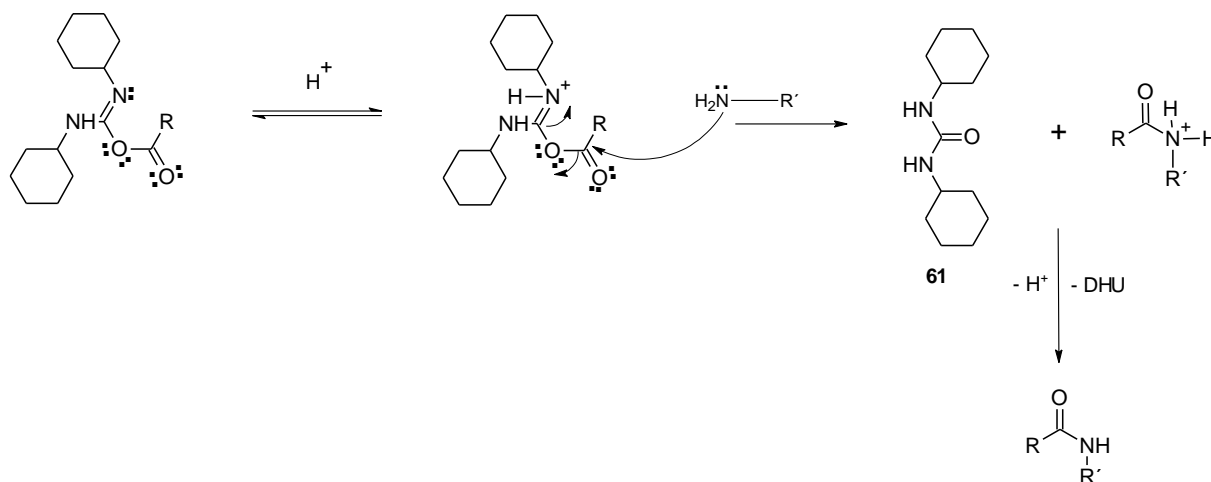
Condições Testadas							
Reação	Racemato 25/26 (eq)	Composto 48 (eq)	TEA (eq)	DCC (eq)	Solvente	Tempo (h)	Temperatura (°C)
1	1	1	1,1	1	CH ₂ Cl ₂	2	TA
2	1	1	1,1	1	CH ₂ Cl ₂	4	TA
3	1	1	1,1	1	CH ₂ Cl ₂	8	TA
4	2	1	2,2	1	CH ₂ Cl ₂	4	40
5	1	1,4	1,1	1,4	CH ₂ Cl ₂	4	TA
6	1	1,4	1,1	1,4	CH ₂ Cl ₂	8	TA
7	1	1,4	1,1	1,4	CH ₂ Cl ₂	24	TA



ESQUEMA 26 – MECANISMO PARA A FORMAÇÃO DE O-ACILISOUREIAS A PARTIR DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS E DCC (NEISES;STEGLICH, 1978).

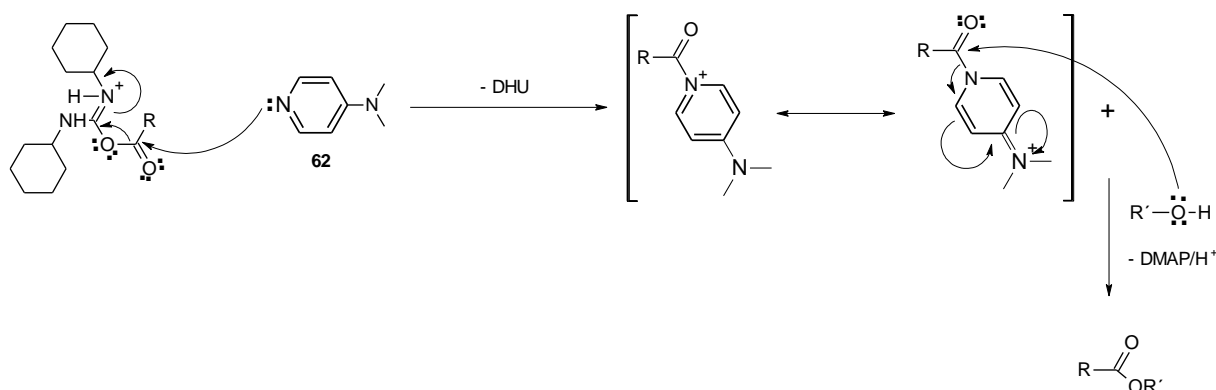
No caso da utilização de aminas frente às O-acylisoureas, ocorre rapidamente o ataque nucleofílico sobre o carbono carbonílico, com posterior

formação da amida derivada e de diciclohexilureia (DHU) (**61**), conforme ilustrado no Esquema 27.



ESQUEMA 27 – OBTENÇÃO DE AMIDAS FRENTE À REAÇÃO ENTRE AMINAS E O-ACILISOUREIAS (NEISES; STEGLICH, 1978).

Para formação de amidas, a reação entre o nucleófilo amina e a O-acilisoureira ocorre rapidamente, sem formação expressiva de subprodutos. No entanto, as esterificações de Steglich tendem a se processar de forma mais lenta, em função da menor nucleofilicidade de hidroxilas alcoólicas, o que favorece a formação de *N*-acilisoureas como materiais indesejados. A fim de se contornar esse fenômeno, é comum o uso de catalisadores para esterificações de Steglich, os quais atuam como fortes nucleófilos, reagindo de forma rápida com as O-acilisoureas, formando amidas intermediárias altamente reativas, propiciando assim o ataque nucleofílico de alcoóis, com posterior obtenção do éster desejado. A 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) (**62**) é um dos catalisadores de maior uso em tais casos. Os detalhes são apresentados no Esquema 28.



ESQUEMA 28 – MECANISMO PARA A ESTERIFICAÇÃO DE STEGLICH (NEISES;STEGLICH,1978).

Com base em tais informações acerca das reações de Steglich, optou-se pelo uso de DCC em proporções estequiométricas ao ácido carboxílico **48** em todas as condições reacionais testadas (Tabela 7), tal qual a ausência de DMAP no sistema, a fim de se eliminar a possibilidade de associação entre fármaco e grupo conector por meio da esterificação com a hidroxila alcoólica da mefloquina. As condições de 1 a 4 da Tabela 07 não apresentaram indícios da formação dos produtos esperados. As abordagens seguintes envolveram o uso de excesso de amina (**25,26**) (condição 4), e o excesso do ácido **48** (condições 5, 6 e 7). Verificou-se por CCD que nas condições com excesso de **48** havia consumo parcial dos reagentes, com formação de um produto, supostamente a mistura esperada dos diastereoisômeros **50** e **51**, mas sem diferenças no padrão de eluição (R_f) que permitissem uma separação cromatográfica dos diastereoisômeros (sugerindo que ambos os compostos apresentem valores equivalentes de R_f). O aumento progressivo do tempo de reação propiciou maior formação de produto a um estado estacionário após 24 horas. O material foi devidamente purificado e isolado (rendimento de 11%), sendo também submetido a análises de espectrometria de massas. O espectro gerado é mostrado na Figura 37.

É possível a identificação de picos de relação massa/carga referentes a adutos sódico ($m/z = 587,972$ Da) e potássico ($m/z = 603,982$ Da) à massa dos diastereoisômeros visados. O perfil de fragmentação molecular é também coerente com tais produtos, sendo possível por exemplo identificar o pico referente à massa da mefloquina na forma de base livre acrescida de um hidrogênio ($m/ = 379,554$ Da),

ou o referente à perda de um grupo formato de metila acrescida de um hidrogênio ($m/z = 507,796$ Da).

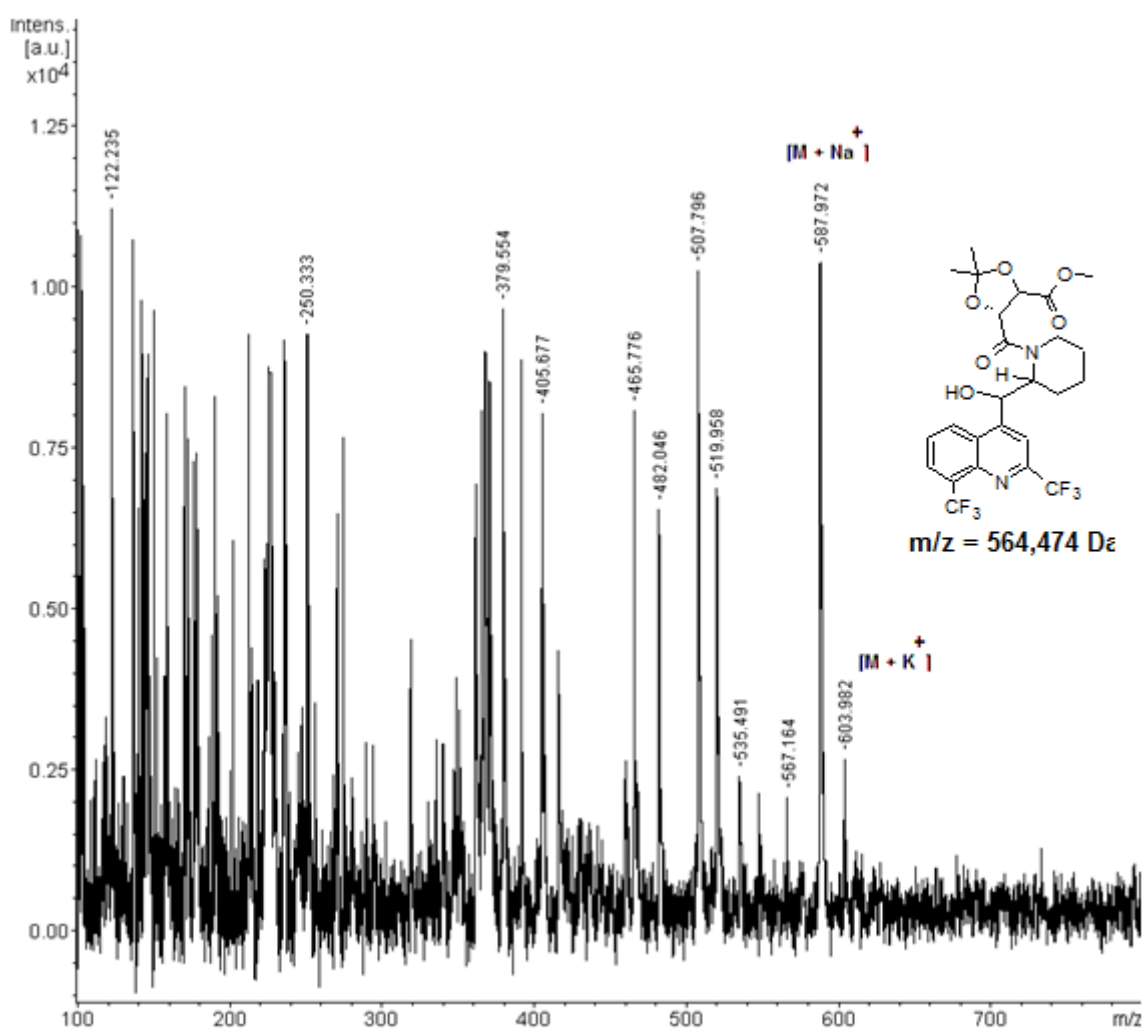
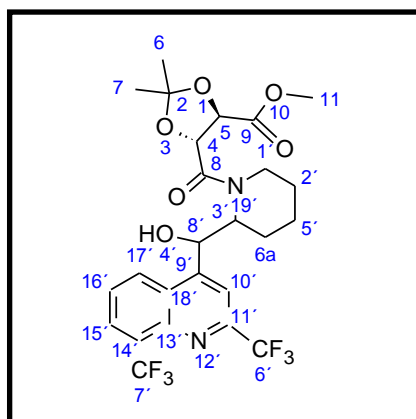


FIGURA 37 – ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AOS PRODUTOS **50** E **51**.

O material foi em seguida submetido a análises de espectroscopia de RMN. Por meio dos dados de deslocamento químico, além dos dados de correlação entre carbono e hidrogênio fornecidos pelas análises bidimensionais, obtiveram-se os valores apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 – PADRÃO DE DESLOCAMENTO QUÍMICO DE ^1H E ^{13}C PARA A MISTURA **50** E **51**.

Numeração	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)	Numeração	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)
1	-	-	4'	-	-
2	-	-	5'	1,98-0,83	19,2-32,3
3	-	-	6'	-	117,5
4	5,40-4,78	76,9	7'	-	119,5
5	5,40-4,78	76,0	8'	6,04-5,96	71,0
6	1,52-1,41	26,3	9'	-	142,0
6 ^a	1,98-0,83	19,2-32,3	10'	8,12	115,0
7	1,52-1,41	26,3	11'	-	134,0
8	-	160,3	12'	-	-
9	-	162,0	13'	-	141,8
10	-	-	14'	-	120,9
11	3,85-3,77	52,6	15'	7,76	127,4
1'	3,68/4,00	42,7	16'	8,14	128,7
2'	1,98-0,83	19,2-32,3	17'	8,86	127,9
3'	4,61/4,51	56,3	18'	-	113,0-133,6
			19'	-	-

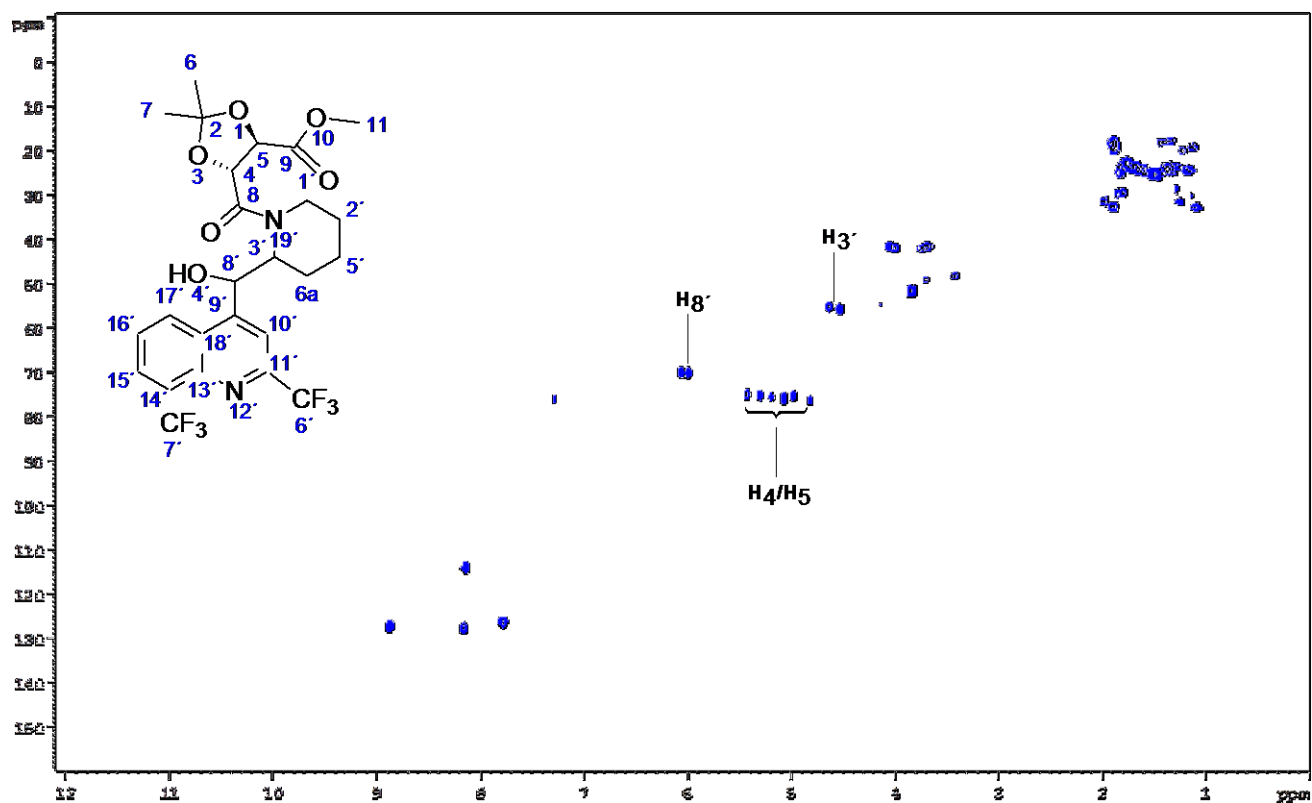


FIGURA 38 – ESPECTRO DE RMN – HSQC (400 MHz) PARA A MISTURA DIASTEREIOISOMÉRICA .50 E 51, EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

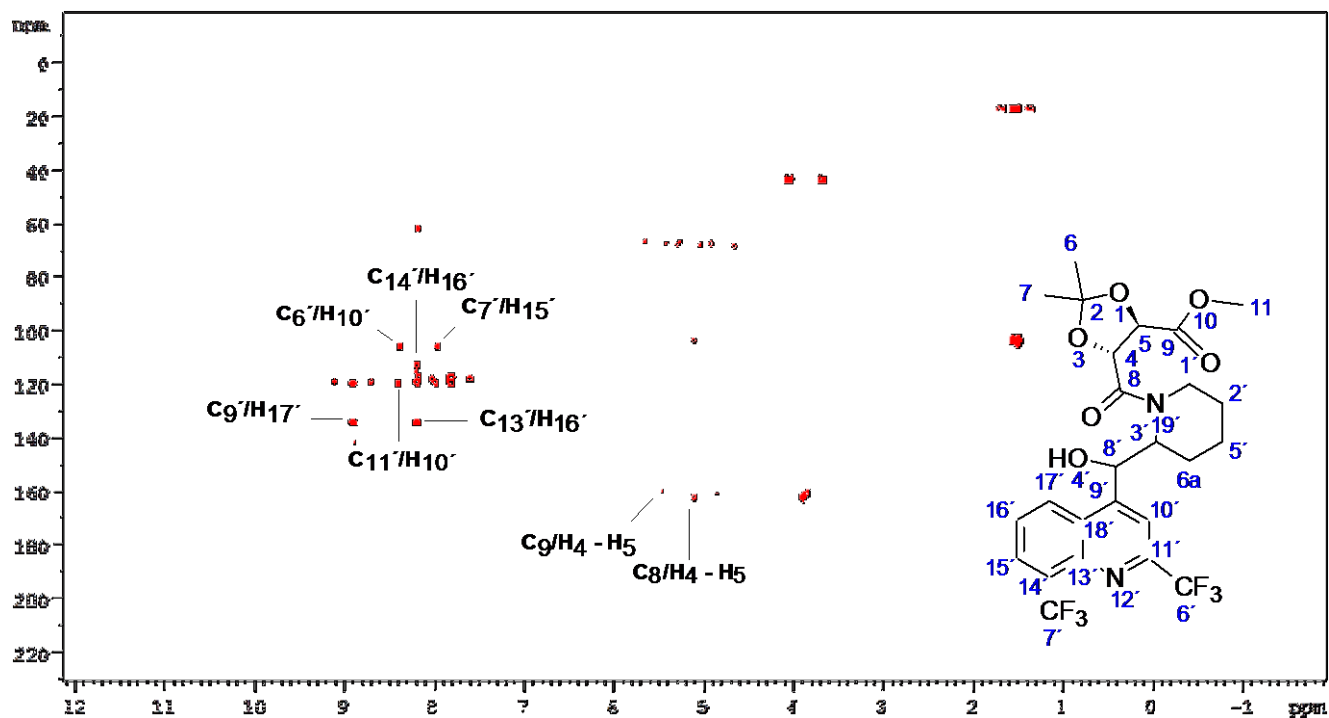


FIGURA 39 – ESPECTRO DE RMN – HMBC (400 MHz) PARA A MISTURA DIASTEREIOISOMÉRICA 50 E 51, EM CDCl_3 , CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

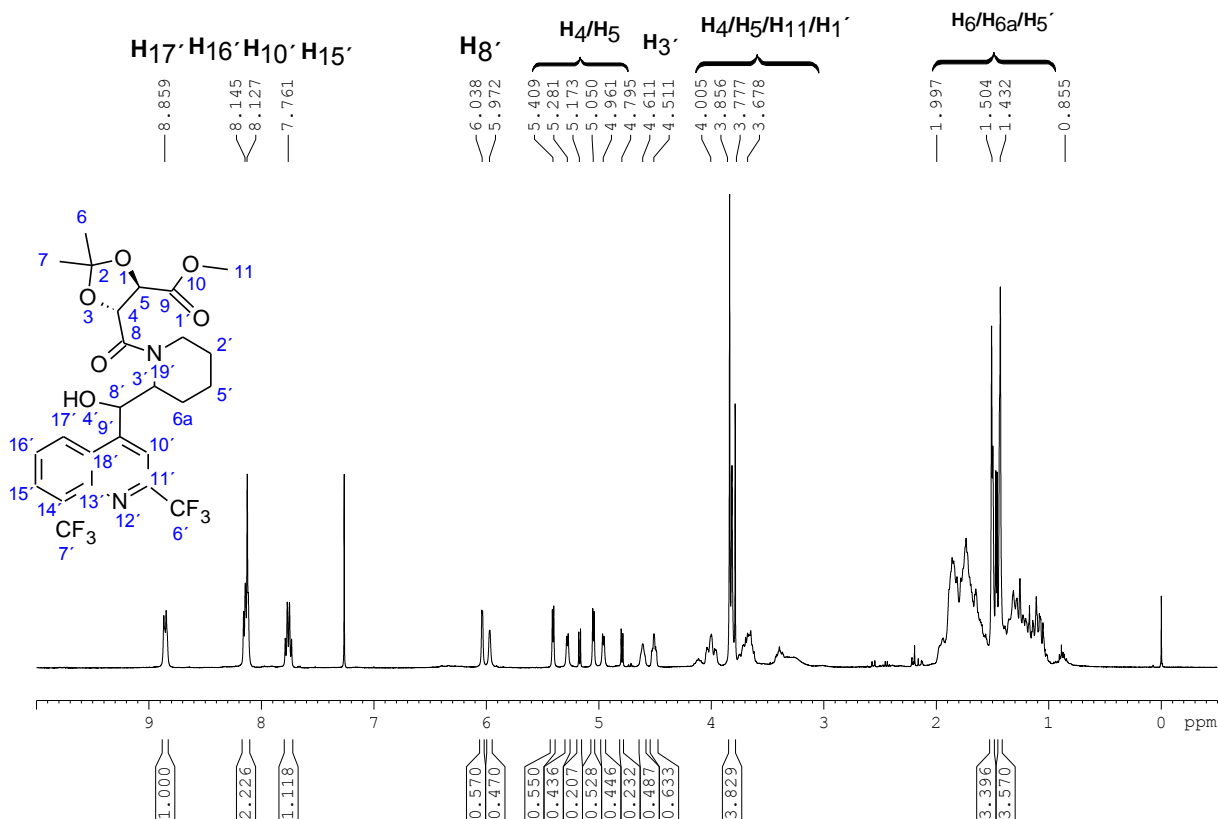


FIGURA 40 – ESPECTRO DE RMN DE ^1H (400 MHz) PARA A MISTURA DIASTEREOISOMÉRICA **50** E **51**, CALIBRADO EM 0 PPM PELO TMS.

Por meio da análise dos espectros de RMN é possível se identificar os sinais referentes aos hidrogênios ligados aos carbonos constituintes do anel quinolínico nas regiões de deslocamento químico assinaladas na tabela.

É importante se ressaltar, para o espectro de RMN de ^1H , o desdobramento do sinal referente ao hidrogênio de numeração 8' (ligado a um dos centros quirais da molécula) em relação ao padrão de sinal de seu correspondente para o espectro do cloridrato de mefloquina (Figura 41). A alteração do ambiente químico próximo decorrente da associação entre o fármaco e o *linker* gera uma mistura diastereoisomérica, e, portanto duas populações de hidrogênios distintos quimicamente, o que justifica o desdobramento do sinal. Os valores de integração obtidos sugerem que há predominância de um dos diastereoisômeros formados.

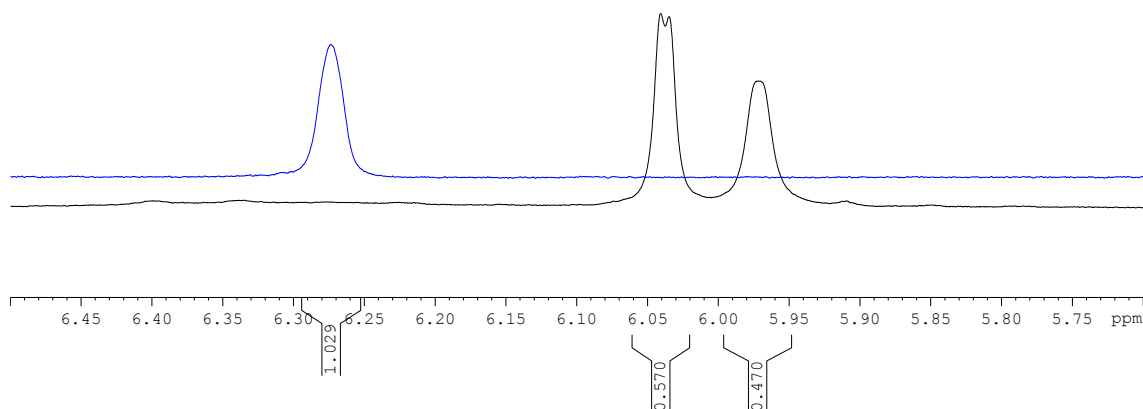


FIGURA 41 – PADRÃO DE DESDOBRAMENTO DO SINAL REFERENTE AO HIDROGÊNIO DE NUMERAÇÃO 8' PARA OS COMPOSTOS **50** E **51** FRENTE AO SINAL DO HIDROGÊNIO ANÁLOGO DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA (EM AZUL).

Frente à análise bidimensional de HSQC (Figura 38), verificou-se que as duas populações de hidrogênio têm a mesma correlação hidrogênio-carbono ($C_{8'}$ - 71,0 ppm), o que reafirma a hipótese levantada.

Verifica-se algo semelhante no sinal referente ao hidrogênio de numeração 3', também ligado a um centro quiral oriundo do cloridrato de mefloquina (Figura 42). Além do deslocamento químico para uma região de maior deslocamento químico (de 3,18 ppm para 4,61/4,51 ppm), ocorre o desdobramento em dois sinais. Os sinais de integração gerados para cada tipo de hidrogênio também sustenta a hipótese de um excesso diastereoisomérico. É importante também ressaltar a correlação ao mesmo carbono ($C_{3'}$ - 56,3 ppm), apontada na Figura 38.

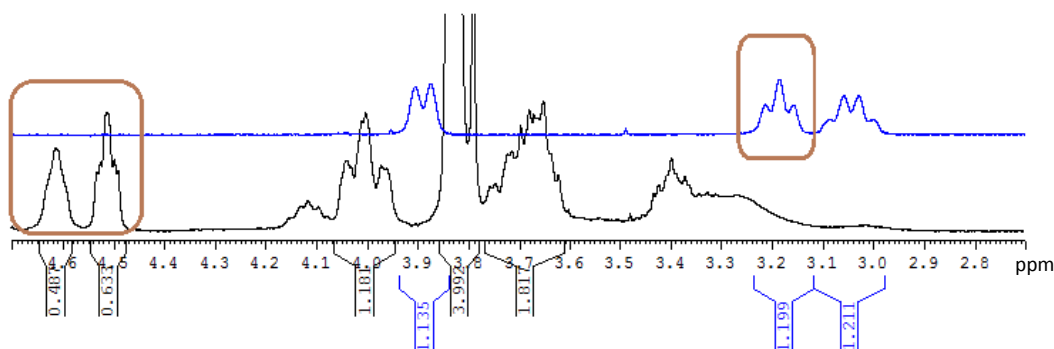


FIGURA 42 – PADRÃO DE DESDOBRAMENTO DO SINAL REFERENTE AO HIDROGÊNIO DE NUMERAÇÃO 3' PARA OS COMPOSTOS **50** E **51** FRENTE AO SINAL DO HIDROGÊNIO ANÁLOGO DO CLORIDRATO DE MEFLOQUINA (EM AZUL). OS SINAIS EM QUESTÃO ESTÃO DESTACADOS EM MARROM.

Algo importante a se ressaltar é que o deslocamento do sinal para uma região de maior deslocamento químico no caso do sinal em questão corrobora a hipótese de ligação do *linker* ao nitrogênio do anel piperidínico, e não à hidroxila alcoólica do cloridrato de mefloquina.

Outro ponto importante a se discutir é a região entre 5,40 e 4,78 ppm, compreendendo os sinais referentes aos hidrogênios 4 e 5. Inicialmente estimou-se que, de modo similar às duas situações apresentadas anteriormente, o padrão de desdobramento dos sinais geraria dois sinais para cada sinal de hidrogênio análogo do composto **48**, o que seria condizente com uma mistura de dois diastereoisômeros. Verificaram-se, contudo, seis sinais distintos, indicando a presença de três pares de hidrogênios quimicamente diferentes, os quais apresentaram correlação a átomos de carbono quimicamente semelhantes (C₄ – 76,9 ppm e C₅ – 76,0 ppm) por meio da análise bidimensional de HSQC (Diante disso, e considerando-se a propriedade de livre rotação do radical alquila que liga o anel quinolínico e o piperidínico, uma hipótese foi levantada, a fim de se justificar o ocorrido.

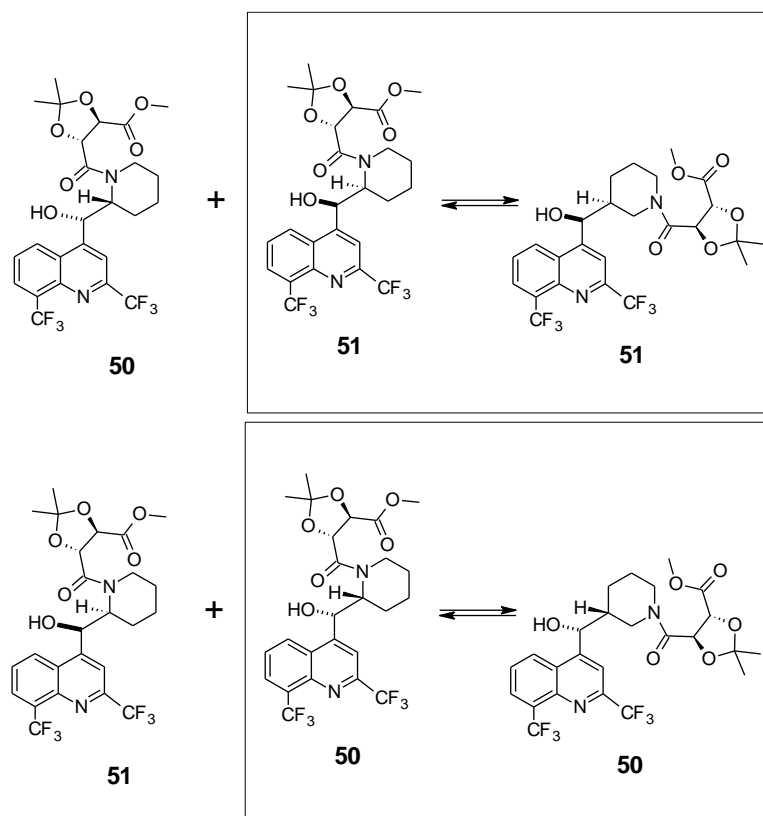
É possível que um dos dois diastereoisômeros formados apresente um arranjo espacial de maior estabilidade. O outro diastereoisômero, em consequência da livre rotação do radical alquila que liga seus anéis quinolínico e piperidínico, e

também sob influência da configuração de seus estereocentros, pode favorecer a formação de um par de arranjos espaciais não idênticos em diferentes proporções, ou seja, dois confôrmeros distintos. Dessa maneira, o ambiente químico próximo aos hidrogênios 4 e 5 pode ser alterado a ponto de causar o desdobramento dos sinais. O Esquema 28 mostra a hipótese apresentada.

Essa hipótese é sustentada por meio da análise do espectro de RMN (Figura 43). Nota-se que o par de sinais assinalados em azul acopla entre si ($J = 4,98$ Hz), assim como os pares assinalados em amarelo ($J = 5,48$ Hz) e em vermelho ($J = 6,07$ Hz). Suas integrações relativas também são equivalentes, e condizem com o número total de hidrogênios estimado. As proporções de cada sinal apresentam relação com a quantidade da espécie diastereoisomérica ou conformacional presente na mistura.

KLEINPETER (1998) descreve diferentes fatores determinantes para o estado conformacional molecular, apontando algumas características que podem se aplicar à hipótese proposta. A possibilidade da formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre os oxigênios carbonílicos e o grupo hidroxila de **50** ou de **51** pode ser, por exemplo, favorecida em consequência da orientação espacial dos ligantes.

Fatores como forças de interação-repulsão ocasionadas pela orientação do *linker* ligante podem influenciar a energia livre conformacional. Confôrmeros com menores valores de energia livre tendem a ser mais estáveis. No caso dos compostos **50** e **51**, é importante ressaltar que o anel piperidínico pode assumir uma conformação em cadeira, com ligantes dispostos em posições equatoriais ou axiais, inclusive o *linker*. O estado energético resultante das orientações dos ligantes do anel piperidínico em cadeira, assim como as interações moleculares oriundas dos eixos de rotação molecular (Figura 44), podem favorecer a estabilização de determinado confôrmero em detrimento de outro.



ESQUEMA 29 – POSSÍVEIS ARRANJOS CONFORMACIONAIS PARA OS DIASTEREISÔMEROS OBTIDOS.

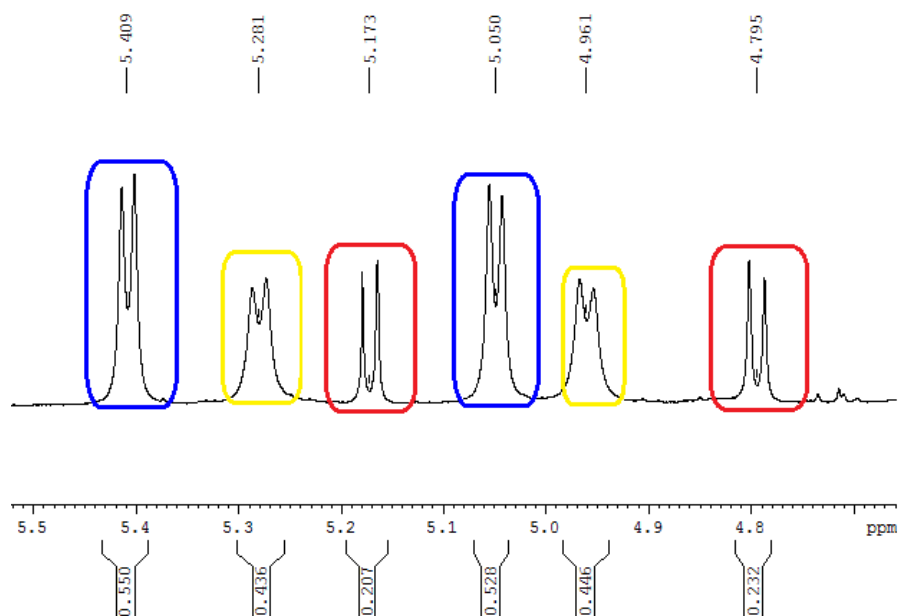


FIGURA 43 – PADRÃO DE DESDOBRAMENTO DO SINAL REFERENTE AOS HIDROGÊNIO DE NUMERAÇÃO 4 E 5, PARA OS COMPOSTOS **50** E **51**.

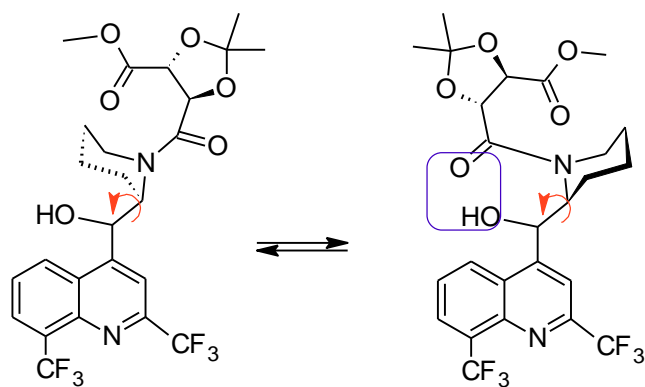


FIGURA 44 – POSSÍVEIS FATORES INFLUENTES SOBRE O ESTADO CONFORMACIONAL DE **50** E **51**.

No que se refere à análise espectral ainda é pertinente apontar os sinais na região entre 3,85 ppm e 3,77 ppm, correspondentes aos hidrogênios ligados ao carbono de numeração 11. A verificação desse sinal é importante porque é também uma confirmação da ligação entre o fármaco e o grupo conector.

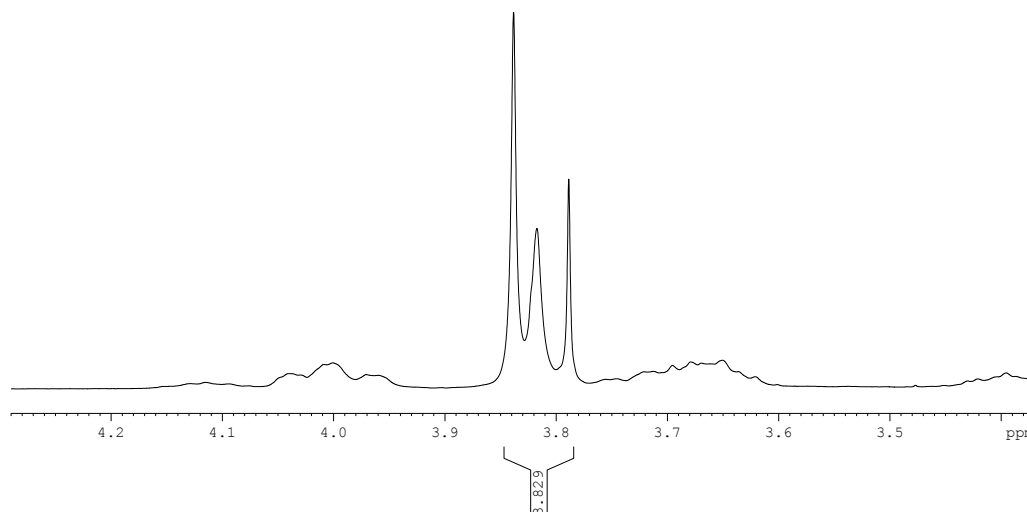


FIGURA 45 – SINAIS REFERENTES AOS HIDROGÊNIOS DO GRUPO METILA 11, PARA OS COMPOSTOS **50** E **51**.

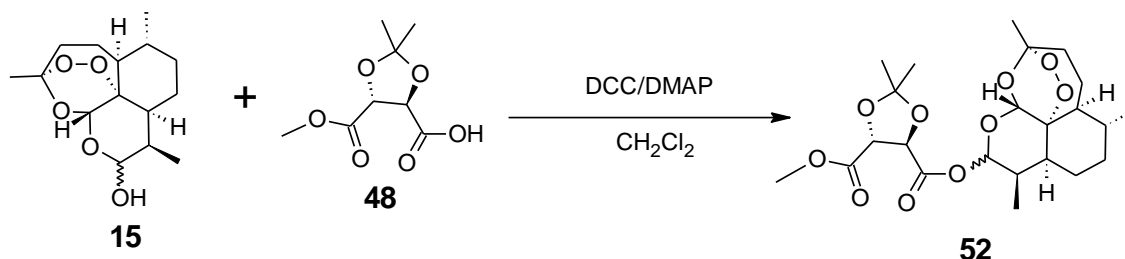
É importante ressaltar a ausência de sinais na região próxima a 10,29 ppm, a qual apresenta um sinal correspondente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio piperidínico no cloridrato de mefloquina, indicando a formação dos compostos alvo.

Embora o sinal referente ao hidrogênio da hidroxila 4' também não esteja presente, isso pode ocorrer por consequência da desprotonação da hidroxila em solventes como o clorofórmio deuterado. Além disso, a ausência dos sinais do DMAP no meio sustenta a não-ocorrência de reação em tal sítio de ligação.

Os hidrogênios e carbonos referentes às numerações 2', 5' e 6a apresentaram valores de deslocamento químico próximos a 1,98-0,83 ppm e 19,2-32,3 ppm, respectivamente. Seu completo assinalamento torna-se dificultado por alguns fatores. Grande quantidade de sinais sobrepostos na área podem estar relacionados a sinais de água intrínseca ao solvente do experimento, impurezas orgânicas, e resíduos de DCC remanescentes mesmo após o procedimento de workup.

O espectro bidimensional do tipo HMBC demonstrou-se importante na determinação de alguns valores de deslocamento químico, principalmente por meio da verificação de correlação à longa distância entre átomos de hidrogênio e átomos de carbono não-hidrogenados, como pode ser verificado na Figura 39. No entanto, alguns sinais de correlação à longa distância supostamente esperados para a molécula em questão não foram verificados, como no caso da ausência de sinais de correlação referentes ao carbono de numeração 18'. Também não verificou-se a presença esperada de sinais de correlação entre o carbono carbonílico C₈ e os hidrogênios de numeração 3' e 8'.

5.9. REAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA (15) AO COMPOSTO 48



ESQUEMA 30 – PARÂMETROS GERAIS PARA A FORMAÇÃO DE **52** A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE **15** E **48**.

Conforme já representado no Esquema 13, a formação do composto **52** foi estudada frente aos parâmetros reacionais de uma esterificação de Steglich, utilizando-se o agente DCC como acoplante, e o catalisador DMAP para a formação de intermediários reativos. À exceção da adição de DMAP simultaneamente ao DCC, os demais parâmetros metodológicos seguiram os utilizados nas reações descritas para a formação dos compostos **50** e **51**.

O monitoramento por CCD indicou o consumo do material inicial, com a formação de um novo material, atingindo um estado estacionário após aproximadamente 24 horas de reação.

Após sua purificação em coluna cromatográfica, o material isolado foi analisado por espectrometria de massas (MALDI-TOF). O perfil do espectro gerado (Figura 46) condiz com fragmentações a molécula visada, sendo verificados picos de relação m/z referentes a fragmentos resultantes da quebra de anéis lactônicos e ponte endoperóxido ($m/z = 434$ Da), com subsequente perda de radicais metila ($m/z = 404$ Da). Ainda mais importante é a presença expressiva do pico de relação $m/z = 471$ Da, referente à massa de **52** acrescida de um átomo de hidrogênio, representando fortes indícios de obtenção do composto. A repetição da reação com isolamento e purificação do mesmo material apresentou reprodutibilidade do padrão do espectro de massas para a substância.

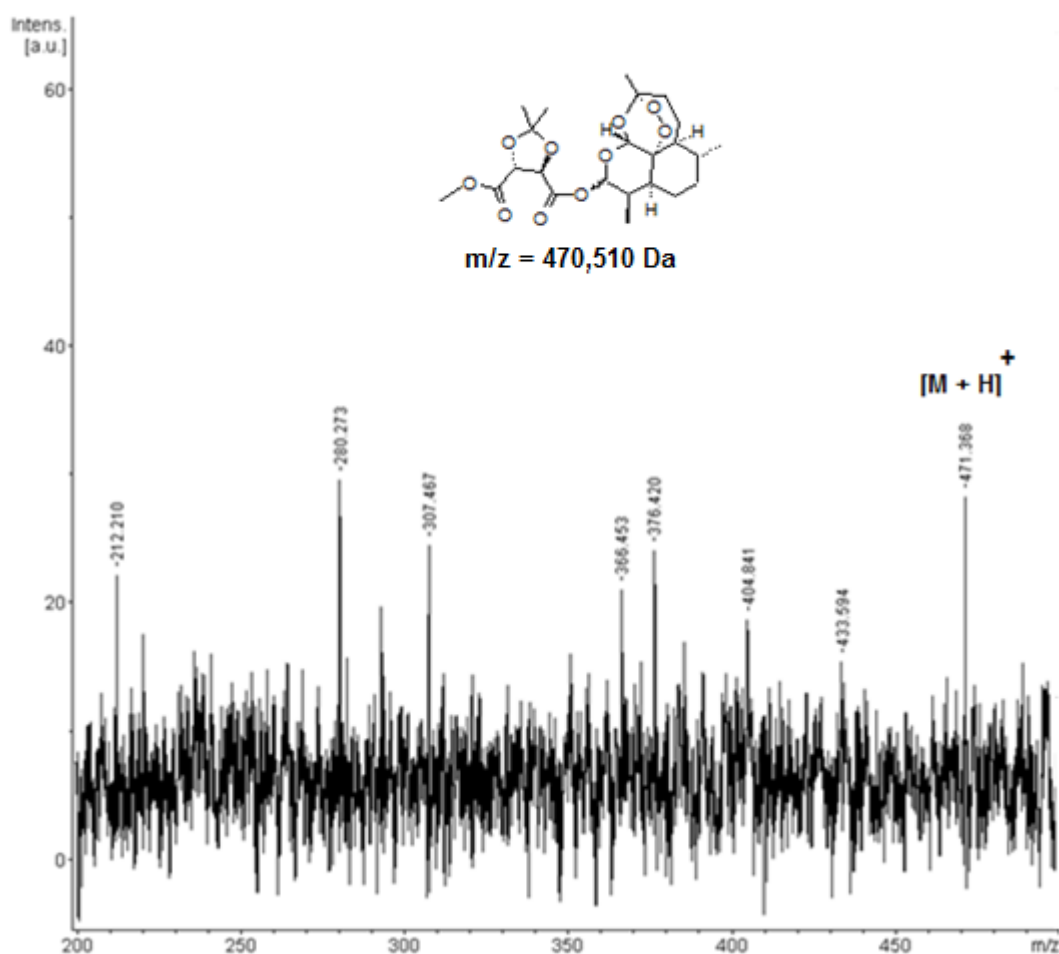
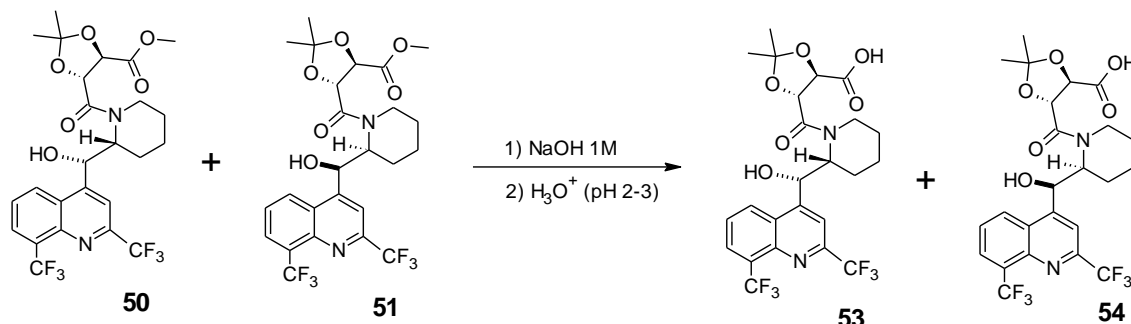


FIGURA 46 – ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO 52.

5.10. SÍNTESE DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-((*S*)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2'*R*)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL)-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**53**); E DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-((*R*)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2'*S*)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL)-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**54**)

A partir dos compostos **50** e **51**, etapa reacional seguinte consistiu na hidrólise do éster metílico da extremidade não-associada aos grupos conectores, visando à formação dos ácidos carboxílicos correspondentes. Tendo-se em vista que a obtenção do composto **48** deu-se por meio de uma hidrólise bastante similar,

optou-se por testar as mesmas condições utilizadas na hidrólise de **48** para a obtenção de **53** e **54** a partir de **50** e **51**, conforme representado no Esquema 30.



ESQUEMA 31 – PARÂMETROS GERAIS DE OBTENÇÃO DE **53** E **54**.

Uma preocupação inicial, contudo, foi a possibilidade da hidrólise promovida por ânion hidróxido ocorrer tanto sobre o grupamento éster quanto para o grupamento amida, formado na etapa anterior pela associação entre o cloridrato mefloquina e **48**. No entanto, dados da literatura (GREEN; WUTS, 1999) indicaram que as amidas são menos suscetíveis às reações de hidrólise que os ésteres, mantendo-se relativamente estáveis em pHs próximos a 12, sem aquecimento. Além disso, a hidrólise de ésteres ocorre de modo consideravelmente mais rápido, de modo a consumir toda a quantidade de íons hidróxido oriundos do NaOH no caso do emprego de proporções estequiométricas. Considerando-se que a condição de hidrólise visada processa-se à temperatura ambiente, em valores de pH próximos a 8, utilizando-se uma proporção de NaOH suficiente para hidrolisar o grupo éster, optou-se por proceder a reação sem nenhum controle adicional. Os detalhes de procedimento são apresentados na sessão de Anexos.

Durante o processamento da reação, monitorou-se o consumo de material de partida por CCD (CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 28%-30% 100:10:1), tal como a formação de um produto, o qual acreditou-se ser uma mistura diastereoisomérica dos compostos **53** e **54** (de modo análogo à reação descrita, não verificaram-se diferenças no padrão de R_f para os supostos diastereoisômeros). O material foi isolado e purificado por métodos extrativos, sendo posteriormente submetido à análise de espectrometria de massas (MALDI-TOF) (Figura 47).

Por meio da análise do espectro de massas gerado, foi possível se identificar os picos de relação massa/carga referentes à massa dos dois diastereoisômeros esperados acrescida de um átomo de hidrogênio, assim como a massa relativa à formação de adutos sódicos. Isso corrobora as evidências de sucesso para essa etapa reacional. A reação apresentou reprodutibilidade e razoável rendimento (30%), o que permitiu a continuidade da síntese à etapa seguinte.

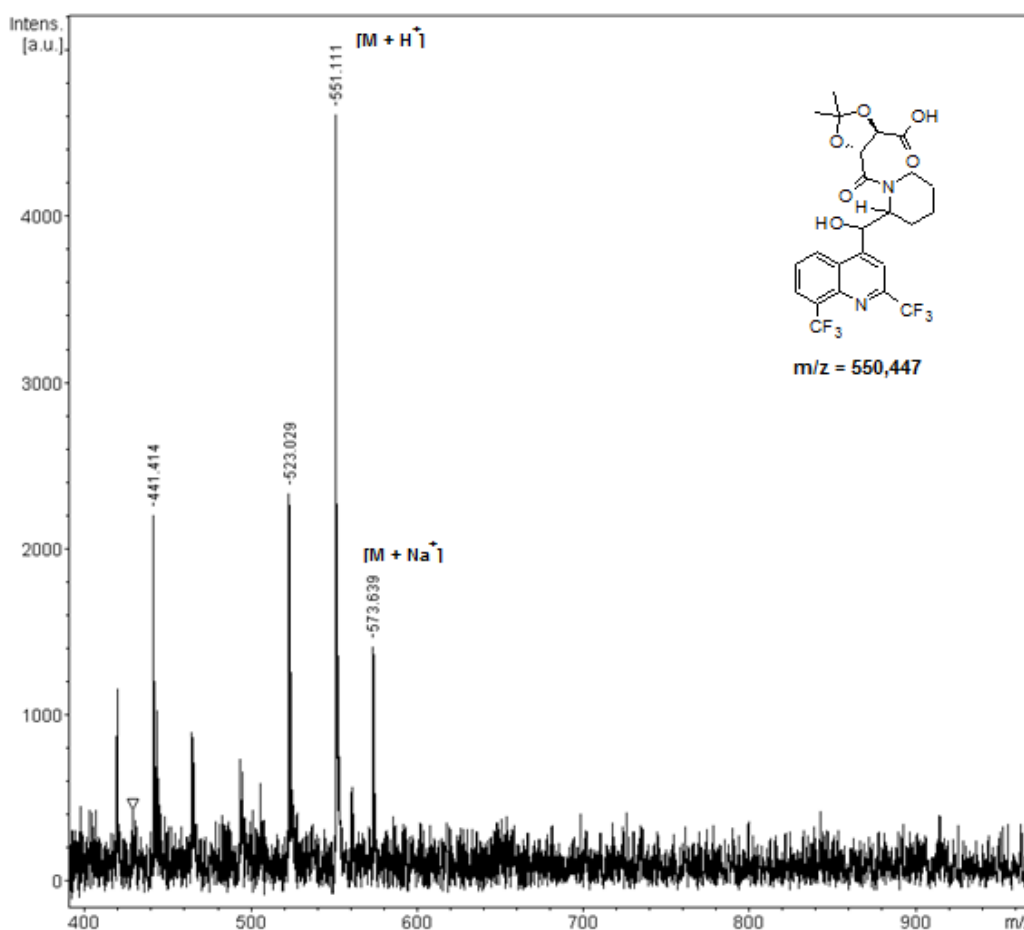
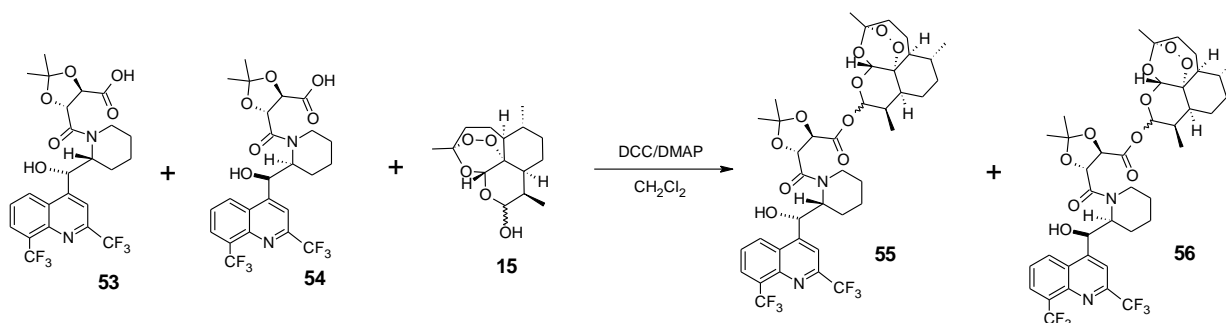


FIGURA 47 – ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE À RELAÇÃO MASSA/CARGA PARA OS PRODUTOS **53** E **54**.

5.11. REAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA A **53** E **54** PARA FORMAÇÃO DE COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS

Após a conexão entre o *linker* **48** e os enantiômeros do cloridrato de mefloquina, alcançou-se a etapa para a formação de compostos multifuncionais por

meio da associação da dihidroartemisinina à mistura diastereoisomérica entre **53** e **54**. A reação empregada para tal tentativa trata-se de uma esterificação de Steglich, justificando a necessidade do uso de DMAP como catalisador (Esquema 32).



ESQUEMA 32 – PARÂMETROS GERAIS DE OBTENÇÃO DE **54** e **55**.

Após 24 horas de reação à temperatura ambiente, verificou-se a formação de um novo produto, com total consumo dos materiais iniciais **53** e **54**. O material foi isolado e purificado com auxílio de coluna cromatográfica, e submetido a análises de espectrometria de massas (MALDI-TOF). A Figura 48 apresenta um espectro de massas onde é possível se verificar o pico de relação $m/z = 816$ Da, condizente com a massa do íon-molecular dos compostos **55** e **56**. Replicatas da reação também apresentaram esse pico em seus respectivos espectros. Este indício de formação do composto motivou a alteração dos parâmetros de aquisição dos espectros. A diminuição da força do laser de ionização sem alteração do índice de reflexão exacerbou a formação de um pico de relação $m/z = 840$, condizente com a massa de um aduto entre **55** ou **56** com o íon Na^+ , acrescido de um átomo de hidrogênio (Figura 49). Sob esses parâmetros foi possível, inclusive, verificar em menor quantidade a presença do pico de relação $m/z = 776$ Da, condizente à abertura do grupo protetor isopropilideno de **55** ou **56**, resultando na massa de **57** ou **58**. O aumento da força do laser de ionização, com redução do índice de reflexão, exacerbou a presença de dois picos, com relação $m/z = 551$ Da e 439 Da, respectivamente (Figura 50). O pico com valor de 551 Da seria condizente com a fragmentação de **55** ou **56** em sua porção proveniente da dihidroartemisinina acrescida de um átomo de hidrogênio, enquanto o pico com valor de 439 Da pode

ser oriundo da fragmentação de **55** ou **56** em sua porção proveniente da mefloquina, com subsequente perda de um átomo de hidrogênio. Tratando-se da análise de um material puro, e do fato de ambos os picos de relação m/z citados anteriormente serem oriundos do mesmo composto, essa evidência contribuiu para se apontar o produto isolado na reação como o composto multifuncional, ou a mistura de diastereoisômeros multifuncionais esperados.

Verificou-se que, a despeito da aquisição de espectros com dados pertinentes de análise, houve dificuldade de aquisição frente à alteração dos parâmetros. Além disso, é possível perceber uma grande quantidade de sinais excedentes nos espectros, além de linhas de base intensas. Possíveis incompatibilidades entre os produtos analisados e a matriz utilizada (HCCA) podem ter sido responsáveis por tais dificuldades, com possível fragmentação dos compostos na fonte, devido à má estabilização proporcionada pela matriz disponível para as análises.

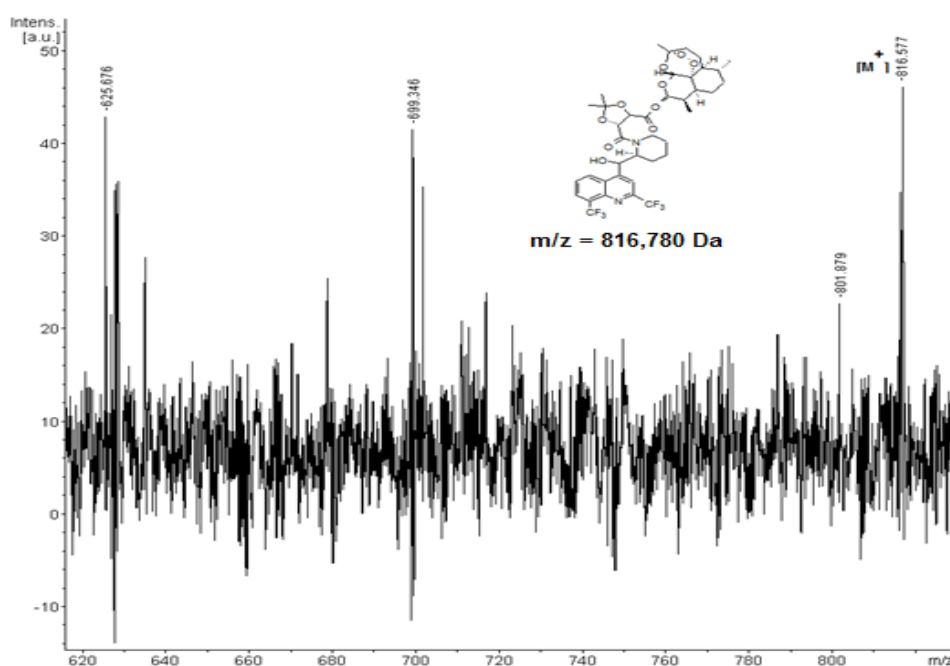


FIGURA 48 – ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO DA REAÇÃO ENTRE **53** E **54** COM **15**, COM DESTAQUE AO PICO DE RELAÇÃO M/Z = 816 Da. (FORÇA DO LASER DE IONIZAÇÃO = 32%; ÍNDICE DE REFLEXÃO = 32).

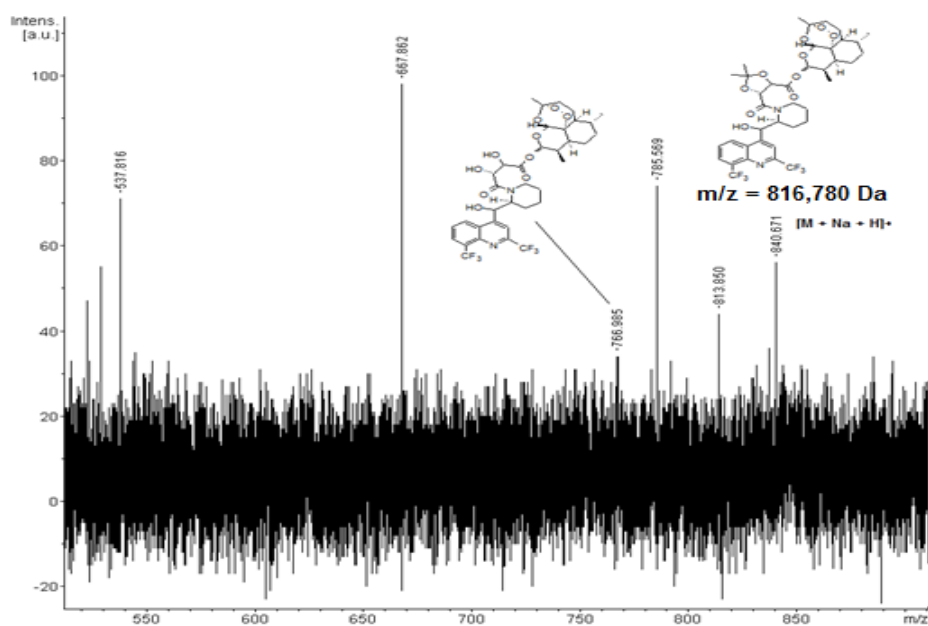


FIGURA 49 – ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO DA REAÇÃO ENTRE **53** E **54** COM **15**. (FORÇA DO LASER DE IONIZAÇÃO = 24%).

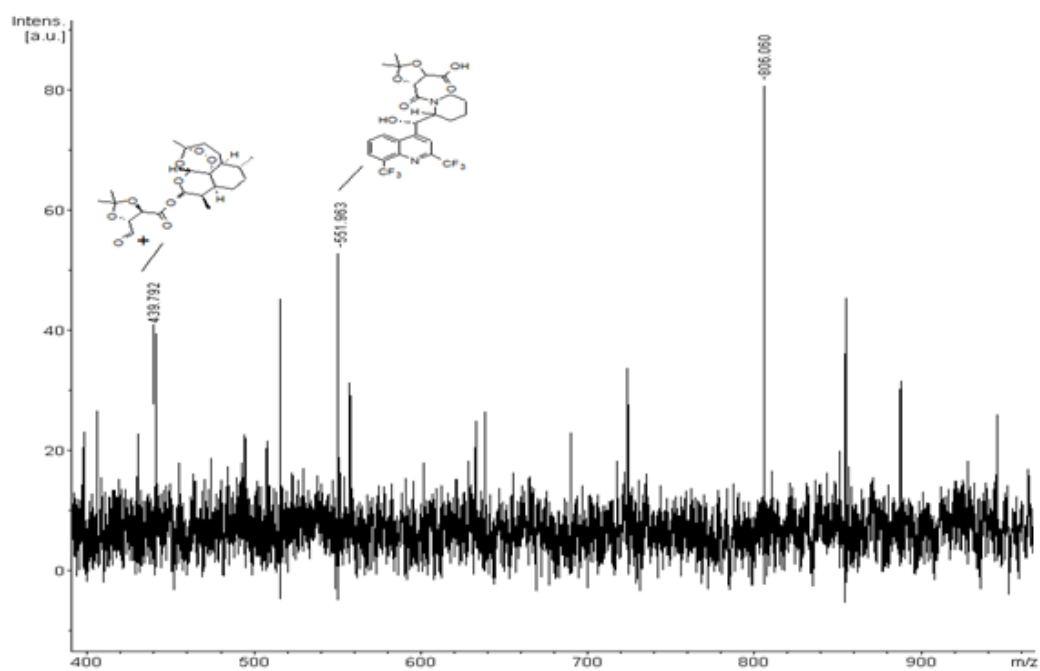


FIGURA 50 – ESPECTRO DE MALDI-TOF REFERENTE AO PRODUTO DA REAÇÃO ENTRE **53** E **54** COM **15**. (FORÇA DO LASER DE IONIZAÇÃO = 50%; ÍNDICE DE REFLEXÃO = 24).

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho realizou a síntese tanto de produtos previamente sintetizados quanto a de outros ainda não descritos na literatura. Os produtos previamente descritos foram a dihidroartemisinina, e principalmente as moléculas destinadas a atuarem como grupos conectores entre os dois fármacos antimaláricos, função empregada esta ainda não explorada na literatura.

Para alguns dos compostos previamente sintetizados (como a dihidroartemisinina - **15** e o (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroibutanodiato de dimetila – **45**) , foi possível verificar que a reprodutibilidade das metodologias descritas gerou rendimentos considerados satisfatórios, não se mostrando necessárias adaptações ou otimizações de técnicas.

Para o composto (4*R*,5*R*)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4,5-dicarboxilato de dimetila (**46**), as melhores condições de síntese foram obtidas por meio de alterações dos parâmetros descritos por DINDAROĞLU e colaboradores (2014), com rendimentos inferiores aos relatados. Embora as reações de hidrólise de **46** tenham-se mostrado eficazes para a obtenção do composto **47**, apenas o produto de hidrólise parcial, **48**, demonstrou-se estável frente às técnicas de purificação empregadas.

A associação do cloridrato de mefloquina ao grupo conector **48** gerou uma mistura diastereoisomérica (**50** e **51**), conforme previsto. O rendimento obtido (11%) podem ser relacionados ao grau de reatividade do nitrogênio piperidínico como nucleófilo, influenciado por parâmetros químicos e estéricos da mefloquina. Apesar de não se verificar resolução cromatográfica, estimou-se que seja possível a separação dos diastereoisômeros, com seleção do eutômero. As informações de integração e constantes de acoplamento dos sinais nos espectros de RMN de ¹H indicaram que um dos diastereoisômeros apresentou padrões conformacionais distintos, o que foi sustentado por meio de análises bidimensionais de HSQC e HMBC.

A formação da mistura dos diastereoisômeros **50** e **51**, assim como seus derivados de hidrólise, **52** e **53** constituiu um grupo de compostos sem descrição prévia na literatura científica. É também inédita a associação de um derivado de ácido aldárico à mefloquina. Considerando-se o grau de importância de fármacos análogos ao quinino no tratamento da malária, este ponto do estudo constitui um ponto de partida importante para o futuro da aplicação de compostos conjugados a carboidratos e derivados na terapia antimalárica.

No que se refere à ACT, a possibilidade de associação de derivados da artemisinina aos compostos sintetizados consiste em uma boa premissa de atrelamento da terapia combinada ao conceito de fármacos multifuncionais, cujo estudo encontra-se em exponencial crescimento nos últimos anos. Perspectivas futuras contemplam a confirmação definitiva da formação dos compostos multifuncionais apresentados neste trabalho, viabilizando futuros testes biológicos.

7. REFERÊNCIAS

ANELLI, P. L., MONTANARI, F., QUICI, S. A General Synthetic Method for the Oxidation of Primary Alcohols To Aldehydes: (S)-(+)-2-Methylbutanal. **Organic Syntheses**, v.69, p.212, 1990. Disponível em: <<http://orgsyn.org/demo.aspx?prep=CV8P0367>>. Acesso em: 25/07/2014.

ARAÚJO, N. C. P., *et al.* Semi-synthetic and synthetic 1,2,4-trioxaquines and 1,2,4-trioxolaquines: synthesis, preliminary SAR and comparison with acridine endoperoxide conjugates. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.19, n.07, p.2038-2043, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.02.013>>. Acesso em: 10/07/2014.

BAIRD, J. K., RIECKMANN, K. H. Can primaquine therapy for vivax malaria be improved? **Trends in Parasitology**, v.19, n.03, p.115-120, 2003. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492203000059>>. Acesso em: 15/05/2014.

BANSAL, Y., SIKALARI, O. Multifunctional compounds: smart molecules for multifactorial diseases. **European journal of medicinal chemistry**, v.76, p.31-42, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24565571>>. Acesso em: 21/06/2014.

BARTON, V., *et al.* Inhibiting *Plasmodium* cytochrome bc₁: a complex issue. **Current opinion in chemical biology**, v.14, n.04, p.440-446, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20570550>>. Acesso em: 16/05/2014.

BASSO, L. G. M., *et al.* Effects of the antimalarial drug primaquine on the dynamic structure of lipid model membranes. **Biochimica et biophysica acta**, v.1808, n.01, p.55-64, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273610002907>>. Acesso em: 30/04/2014.

BOLOGNESI, M. L., *et al.* Novel class of quinone-bearing polyamines as multi-target-directed ligands to combat Alzheimer's disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.50, n.20, p.4882-4897, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17850125>>. Acesso em: 12/04/2014.

BOLOGNESI, M. L., CAVALLI, A., MELCHIORRE, C. Memoquin: A Multi-Target-Directed Ligand as an Innovative Therapeutic Opportunity for Alzheimer's Disease. **The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, v.06, p.152-162, 2009. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1016%2Fj.nurt.2008.10.042>>. Acesso em: 07/06/2014.

BORSCH, R. F., BERNSTEIN, M. D., DURST, H. D. The Cyanohydridoborate Anion as a Selective Reducing Agent. **Journal of the American Chemical Society**, v.93, n.12, p.2897-2904, 1971. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00741a013>>. Acesso em: 25/07/2014.

BRAGA, E. M., FONTES, C. J. F. *Plasmodium* – Malária. In: NEVES, D. P., *et al.* **Parasitologia Humana**. 11ª edição. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Editora Atheneu, 2010. p.143-161.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5 ed. Brasília: ANVISA, 2010.

BURKI, T. Artemisinin resistance could endanger fight against malaria. **The Lancet Infectious Diseases**, v.09, n.04, p.213, 2009. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309909700982>>. Acesso em: 30/06/2014.

CAMPBELL, W., *et al.* The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2015. **The Official Site of the Nobel Prize**. Disponível em <https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2015/tu-facts.html>. Acesso em 10/04/2016.

CAPELA, R. S. S. S. **Compostos Híbridos da Artemisinina – Direccionamento para as fases sanguínea e hepática do parasita da malária**. 276p. Tese (Doutoramento em Farmácia: Química Farmacêutica e Terapêutica)- Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011. Disponível em <http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/6599/1/ulsd063009_td_Rita_Capela.pdf>. Acesso em: 29/03/2014.

CAPELA, R. V., *et al.* Design and Evaluation of Primaquine-Artemisinin Hybrids as a Multistage Antimalarial Strategy. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.55, n.10, p.4698-4706, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3186991/>>. Acesso em: 13/04/2014.

CARRARA, V. I., *et al.* Changes in the treatment responses to artesunate-mefloquine on the northwestern border of Thailand during 13 years of continuous deployment. **PloS one**, v.04, n.02, p.4551, 2009. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2641001&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 28/06/2014.

CAVALLI, A., *et al.* Multi-target-directed-ligands to combat neurodegenerative diseases. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, n.03, p.347-372, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18181565>>. Acesso em: 01/04/2014.

CAVALLI, A., BOLOGNESI, M. Neglected tropical diseases: multi-target-directed ligands in the search for novel lead candidates against *Trypanosoma* and *Leishmania*. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.52, n.23, p.7339-7359, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19606868>>. Acesso em: 07/04/2014.

CAVALLI, A., BOLOGNESI, M. Multitargeted drugs for treatment of Alzheimer's disease. In: PETERS, J. U. **Polypharmacology in Drug Discovery**. Nova Jersey: Editora John Wiley & sons, 2012. p.441-458.

CDC. **About Malaria: Disease** (2010). Disponível em: <<http://www.cdc.gov/malaria/about/disease.html>>. Acesso em: 13/04/2014.

CDC. **About Malaria: Malaria Parasites** (2012). Disponível em: <<http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/parasites.html>>. Acesso em: 13/04/2014.

CDC. **About Malaria: Biology** (2012). Disponível em: <<http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>>. Acesso em: 13/04/2014.

CHUNG, H. Y., *et al.* Preparation of Sorbitol Fatty Acid Polyesters, Potential Fat Substitutes: Optimization of Reaction Conditions by Response Surface Methodology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.73, n.05, p.637-643, 1996. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/225807011_Preparation_of_sorbitol_fatty_acid_polyesters_potential_fat_substitutes_Optimization_of_reaction_conditions_by_response_surface_methodology>. Acesso em: 17/04/2015.

DE LUCA, L., GIACOMELLI, G., PORCHEDDU, A. A Very Mild and Chemoselective Oxidation of Alcohols to Carbonyl Compounds. **Organic Letters**, v.03, n.19, 2001. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol016501m>>. Acesso em: 21/07/2014.

DEEPIKA, F., CHATURAKA, R., SENAKA, R. Primaquine in vivax malaria: an update and review on management issues. **Malaria Journal**, v.10, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3306765/pdf/1475-2875-10-351.pdf>>. Acesso em: 16/05/2014.

DIAS, M. V. B., *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* dihydrofolate reductase reveals two conformational states and a possible low affinity mechanism to antifolate drugs. **Structure**, v.22, n.01, p.94-103, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096921261300395X>>. Acesso em: 17/05/2014.

DINDAROĞLU, M. *et al.* Synthesis of C₂-Symmetric Biphosphine Ligands from Tartaric Acid, and their performance in the Pd-catalyzed asymmetric O-allylation of phenol. **European Journal of Organic Chemistry**, v.2014, n.20, p.4315-4326, 2014. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejoc.201402326/epdf>>. Acesso em: 12/10/2014.

DING, X. C., BECK, H. P., RASO, G. *Plasmodium* sensitivity to artemisinins: magic bullets hit elusive targets. **Trends in parasitology**, v.27, n.02, p.73-81, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21169061>>. Acesso em: 19/06/2014.

DONDORP, A. M., *et al.* Artemisinin resistance: current status and scenarios for containment. **Nature**, v.08, n.04, p.272-280, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20208550>>. Acesso em: 28/06/2014.

DOW, G. S., *et al.* The Antimalarial Potential of 4-Quinolinecarbinolamines May Be Limited due to Neurotoxicity and Cross-Resistance in Mefloquine-Resistant *Plasmodium falciparum* Strains. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.48, n.07, p.2624-2632, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15215119>>. Acesso em: 12/05/2014.

EGAN, T. J., *et al.* Fate of haem iron in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **The Biochemical Journal**, v.365, p.343-347, 2002. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1222701&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 18/04/2014.

FANG, L., *et al.* Hybrid molecules from xanomeline and tacrine: enhanced tacrine actions on cholinesterases and muscarinic M₁ receptors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.53, n.05, p.2094-2103, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20158205>>. Acesso em: 03/04/2014.

FRANÇA, T. C. C., SANTOS, M. G., VILLAR, J. D. F. Malária: Aspectos Históricos e Quimioterapia. **Química Nova**, v.31, n.02, p.571-574, 2008. Disponível em: <<http://www.ijppsjournal.com/Vol6Suppl2/8521.pdf>>. Acesso em: 22/04/2014.

GAMO, F. Antimalarial drug resistance: new treatments options for *Plasmodium*. **Drug Discovery Today: Technologies**, v.30, n.20, p.1740-1767, 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1740674914000080>>. Acesso em: 12/04/2014.

GILLESPIE, R. J. *et al.* 4-Quinolinemethanol derivatives as purine receptors antagonists (II). **US 6608085 B1**, 2003.

GOODEY, N. M., *et al.* Prediction of residues involved in inhibitor specificity in the dihydrofolate reductase family. **Biochimica et biophysica acta**, v.1814, n.12, p.1870-1879, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570963911002214>>. Acesso em: 15/05/2014.

GOODMAN, C. D., McFADDEN, G. I. Targeting apicoplasts in malaria parasites. **Expert opinion on therapeutic targets**, v.17, n.02, p.167-177, 2013. Disponível em: <http://geoffmcfadden.com/McFadden_Lab/Mcfadden_Papers/2012/Goodman_CurrOpTherTarg_2012.pdf>. Acesso em: 19/05/2014.

GREEN, T. W., WUTS, P. G. M. Protective groups in Organic Synthesis. **Wiley-Interscience**, p. 604-607, 744-747. 1999

GRELLEPOIS, F., *et al.* Design, synthesis and antimalarial activity of Trifluoromethylartemisinin-Mefloquine dual molecules. **ChemBioChem**, v.06, p.648-652, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15723441>>. Acesso em: 15/04/2014.

HAYNES, R. K., *et al.* The Fe²⁺-mediated decomposition, PfATP6 binding, and antimalarial activities of artemisone and other artemisinins: the unlikelihood of C-centered radicals as bioactive intermediates. **ChemMedChem**, v.02, n.10, p.1480-1497, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17768732>>. Acesso em: 23/05/2014.

HEMPELMANN, E., KRAFTS, K. Bad air, amulets and mosquitoes: 2,000 years of changing perspectives on malaria. **Malaria Journal**, Londres, v.12, n.01, 2013. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3723432&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 20/04/2014.

HERRERA, M., *et al.* Pyrimethamine induces oxidative stress in *Plasmodium yoelii* 17XL-infected mice: a novel immunomodulatory mechanism of action for an old antimalarial drug? **Experimental Parasitology**, v.126, n.03, p.381-388, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489410000688>>. Acesso em: 14/05/2014.

HILL, D. R., *et al.* Primaquine: report from CDC expert meeting on malaria chemoprophylaxis I. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.75, n.03, p.402-415, 2006. Disponível em: <<http://www.ajtmh.org/content/75/3/402.full.pdf+html>>. Acesso em: 30/04/2014.

HO, W. E., *et al.* Artemisinins: Pharmacological actions beyond anti-malarial. **Pharmacology and therapeutics**, v.142, n.01, p.126-139, 2014. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0163725813002295/1-s2.0-S0163725813002295-main.pdf?_tid=b29991b0-1aa3-11e4-ab61-00000aab0f6c&acdnat=1407025290_d8c0c16c234ed0b254a2f328d6b28fbd>. Acesso em: 22/06/2014.

HONG, Y. L., YANG, Y. Z., MESHNICK, S. The interaction of artemisinin with malarial hemozoin. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v.63, p.121-128, 1994. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0166685194900140#>>. Acesso em: 01/05/2014.

JEFFRESS, M., FIELDS, S. Identification of putative *Plasmodium falciparum* mefloquine resistance genes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v.139, n.02, p.133-139, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15664648>>. Acesso em: 26/06/2014.

JEYADEVAN, J. P., *et al.* Antimalarial and antitumor evaluation of novel C-10 non-acetal dimers of 10beta-(2-hydroxyethyl)deoxoartemisinin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.47, n.05, p.1290-1298, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14971909>>. Acesso em: 13/07/2014.

KIM, B. M. *et al.* New ethylaziridine derivatives and their preparation methods. **WO 01/12599 A1**, 2001.

KLEINPETER, E. Conformational analysis of saturated six-membered oxygen-containing heterocyclic rings. **Advances in heterocyclic chemistry**, v.69, p.217-269, 1998.

KLIMPT, A. D. *et al.* Mefloquine derivatives : synthesis , mechanisms of action, antimicrobial activities. **Science against microbial pathogens**, v.10275, p.23-35, 2011. Disponível em: <<http://www.formatex.info/microbiology3/book/23-35.pdf>>. Acesso em: 02/04/2014.

KLONIS, N., CREEK, D. J., TILEY, L. Iron and heme metabolism in *Plasmodium falciparum* and the mechanism of action of artemisinins. **Current opinion in microbiology**, v.16, n.06, p.722-727, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23932203>>. Acesso em: 19/06/2014.

KNIGHT, J. D. *et al.* Asymmetric total synthesis of the antimalarial drug (+) – Mefloquine Hydrochloride via chiral *N*-Amino Cyclic Carbamate Hydrazones. **Organic Letters**, v.13, n.12, p.3118-3121, 2011. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol2010193?journalCode=orlef7>>. Acesso em: 15/03/2015.

KRISHNA, S., UHLEMANN, A., HAYNES, R. Artemisinins: mechanisms of action and potential for resistance. **Drug Resistance Updates**, v.07, p.233-244, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15533761>>. Acesso em: 15/04/2014.

LEITE, F. H. A., *et al.* Malaria: From old drugs to new molecular targets. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.02, n.04, p.59-76, 2013. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/view/16983>>. Acesso em: 30/04/2014.

LOMBARD, M., *et al.* Antimalarial and anticancer activities of artemisinin-quinoline hybrid-dimers and pharmacokinetic properties in mice. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.47, n.05, p.834-841, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23069618>>. Acesso em: 20/07/2014.

LÜTGENDORF, C., *et al.* Pharmacodynamic interaction between atovaquone and other antimalarial compounds against *Plasmodium falciparum* in vitro. **The Middle European Journal of Medicine**, v.118, n.03, p.70-76, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17131244>>. Acesso em: 15/05/2014.

MAERTENS, C., *et al.* Inhibition of volume-regulated and calcium-activated chloride channels by the antimalarial mefloquine. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v.295, n.01, p.29-36, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10991957>>. Acesso em: 14/06/2014.

MAGID, A. F. A., *et al.* Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride - Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures. **Journal of Organic Chemistry**, v.61, n.11, p.3849-3862, 1996. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo960057x>>. Acesso em: 20/06/2015.

MAGUEUR, G., *et al.* Fluoro-artemisinins: When a *gem*-difluoroethylene replaces a carbonyl group. **Journal of Fluorine Chemistry**, v.127, p.637-642, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022113905003787>>. Acesso em: 24/06/2014.

MATSUMURA, Y., *et al.* A New Method for Synthesis of Unsymmetrical Ureas Using Electrochemically Prepared Trifluoroethyl Carbamates. **Journal of Organic Chemistry**, v.65, n.05, p.1549-1551, 2000.

MENEZES, C. M. S., *et al.* Molecular modeling of novel 1 *H* -pyrazolo [3 ,4- b] pyridine derivatives designed as isosters of the antimalarial mefloquine. **Journal of Molecular Structure**, v.579, p.31-39, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166128001006777>>. Acesso em: 28/06/2014.

MESHNICK, S. R. Artemisinin : mechanisms of action , resistance and toxicity. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.1655-1660, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751902001947>>. Acesso em: 24/06/2014.

MESSORI, L., *et al.* The reaction of artemisinin with hemin: a further insight into the mechanism. **Inorganica Chimica Acta**, v.357, n.15, p.4602-4606, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002016930400338X>>. Acesso em: 08/05/2014.

MORPHY, R., KAY, C., RANKOVIC, Z. From magic bullets to designed multiple ligands. **Drug Discovery Today**, v.09, n.15, p.641-651, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644604031630>>. Acesso em: 14/05/2014.

MORPHY, R., RANKOVIC, Z. The Physicochemical Challenges of Designing Multiple Ligands. **Journal Medicinal Chemistry**, v.49, p.4961-4970, 2006. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm0603015> >. Acesso em: 14/05/2014.

MÜLLER, I., HYDE, J. H. Folate metabolism in human malaria parasites – 75 years on. **Molecular & biochemical parasitology**, v.188, n.01, p.63-77, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166685113000339>>. Acesso em: 15/05/2014.

MULLIÉ, C., *et al.* Differences in anti-malarial activity of 4-aminoalcohol quinoline enantiomers and investigation of the presumed underlying mechanism of action. **Malaria Journal**, v.11, p.65-71, 2012. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3314553&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 21/06/2014.

MURAMBIWA, P., *et al.* Anti-malarial drug formulations and novel delivery systems: a review. **Acta Tropica**, v.118, n.02, p.71-79, 2011. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0001706X11000623/1-s2.0-S0001706X11000623-main.pdf?_tid=49a9c3ba-dfba-11e3-afba-00000aabb0f27&acdnat=1400547874_fe07a1b66567df28e898e169e1888292>. Acesso em: 16/05/2014.

MYINT, H. Y., *et al.* Review: Improving the therapeutic index of 8-aminoquinolines by the use of drug combinations: review of the literature and proposal for future investigations. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.85, n.06, p.1010-1014, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3225144/pdf/tropmed-85-1010.pdf>>. Acesso em: 15/05/2014.

NEISES, B., STEGLICH, W. Simple Method for the esterification of carboxylic acids. **Angewandte Chemie International Edition**, v.17, p. 522-524. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1002/anie.197805221>>. Acesso em 30/10/2015.

NIXON, G. L., *et al.* Antimalarial pharmacology and therapeutics of atovaquone. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v.68, n.05, p.977-985, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23292347>>. Acesso em: 16/05/2014.

ODUOLA, A. M. J., *et al.* *Plasmodium falciparum*: induction of resistance to mefloquine in cloned strains by continuous drug exposure *in vitro*. **Experimental Parasitology**, v.67, n.02, p.354-360, 1988. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3056740>>. Acesso em: 24/06/2014.

OLIVEIRA, P. S. M., FERREIRA, V. F. Utilização do D-manitol em síntese orgânica. **Química Nova**, v.32, n.02, p.441-458, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n2/v32n2a31.pdf>>. Acesso em: 17/03/2015.

OLLIARO, P. L., *et al.* Possible modes of action of the artemisinin-type compounds. **Trends in parasitology**, v.13, n.03, p.122-126, 2001. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492200018389>>. Acesso em: 25/06/2014.

OMS. **The World Malaria Report 2013**, 2013. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/report/en/>. Acesso em: 13/04/2014.

OMS. **Malaria: Microscopy**, 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/malaria/areas/diagnosis/microscopy/en/>>. Acesso em: 27/05/2014.

OMS. **Malaria: Rapid Diagnostic Tests**, 2014. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/areas/diagnosis/rapid_diagnostic_tests/en/>. Acesso em: 28/05/2014.

O'NEILL, P. M., *et al.* 4-aminoquinolines – past, present and future: a chemical perspective. **Pharmacology & Therapeutics**, v.77, n.01, p.29-58, 1998. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0163725897000843/1-s2.0-S0163725897000843-main.pdf?_tid=84f48b2a-db0b-11e3-96cc-00000aab0f01&acdnat=1400033007_4f86dbe70f50594cc6ab2dede2c2b2a8>. Acesso em: 17/04/2014.

O'NEILL, P. M., *et al.* A medicinal chemistry perspective on 4-aminoquinoline antimalarial drugs. **Current topics in medicinal chemistry**, v.06, p.479-507, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16719804>>. Acesso em: 18/04/2014.

O'NEILL, P. M., BARTON, V. E., WARD, S. A. The molecular mechanism of action of artemisinin-the debate continues. **Molecules**, v.15, n.03, p.1705-1721, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20336009>>. Acesso em: 21/05/2014.

PARASURAMAN, P., SURESH, R., PREMNATH, D. Balancing anti-amyloid and anti-cholinesterase capacity in a single chemical entity: *Insilico* drug design. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.06, n.02, p.571-574, 2014. Disponível em: <<http://www.ijppsjournal.com/Vol6Suppl2/8521.pdf>>. Acesso em: 16/04/2014.

PHILLIPS, R. S. Current Status of Malaria and Potential for Control. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.01, p.208-226, 2001. Disponível em: <<http://cmr.asm.org/content/14/1/208.full.pdf+html?sid=b96f493b-21f7-4447-afae-ea5d34b1c9ef>>. Acesso em: 22/04/2014.

POSNER, G. H., O'NEILL, P. M. Knowledge of the proposed chemical mechanism of action and cytochrome p450 metabolism of antimalarial trioxanes like artemisinin allows rational design of new antimalarial peroxides. **Accounts of Chemical Research**, v.37, n.06, p.397-404, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15196049>>. Acesso em: 07/06/2014.

PRADEL, G., SCHLITZER, M. Antibiotics in malaria therapy and their effect on the parasite apicoplast. **Current molecular medicine**, v.10, n.03, p.335-349, 2010. Disponível em: <<http://web.a.ebscohost.com.ez22.periodicos.capes.gov.br/ehost/detail?vid=3&sid=9d18d4bc-797e-4a52-8d6c-340539a56c41%40sessionmgr4001&hid=4214&bdata=Jmxhbm9cHQYnImc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#db=aph&AN=54325034>>. Acesso em: 19/05/2014.

RADULOVIC, N. S., *et al.* Toxic essential oils. Part II: Chemical, toxicological, pharmacological and microbiological profiles of *Artemisia annua* L. volatiles. **Food and Chemical Toxicology**, v.58, p.37-49, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23607933>>. Acesso em: 18/05/2014.

RANG, H. P., *et al.* Fármacos antiprotozoários. In: RANG, H. P., *et al.* **Farmacologia**. 5ª edição. Tradução de Patrícia Lydie Voeux e Antonio José Magalhães da Silva Moreira. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2004. p.765-781.

RICHTER, G. V., 2-Formyl-Piperidine-1-Carboxylic Acid Tert-Butyl Ester 157634-02-1 Synthesis Route, **Patente WO2007/39782 A1**, p.32, 2007.

ROBERT, A., *et al.* From mechanistic studies on artemisinins derivatives to new modular antimalarial drugs. **Accounts of Chemical Research**, v.35, n.03, p.167-174, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11900520>>. Acesso em: 10/05/2014.

ROSINI, M., *et al.* Inhibition of Acetylcholinesterase, β -Amyloid Aggregation, and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease: A Promising Direction for the Multi-target-Directed Ligands Gold Rush. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, n.15, p.4381-4384, 2008. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jm800577j>>. Acesso em: 13/05/2014.

SCHLITZER, M. Antimalarial drugs – What is in use and what is the pipeline. **Archiv der Pharmazie Chemistry in life sciences**, v.341, p.149-163, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18297679>>. Acesso em: 24/04/2014.

SCHMIDT, M., *et al.* Determining the absolute configuration of (+)-mefloquine HCl, the side-effect-reducing enantiomer of the antimalaria drug Lariam. **Journal of the American Chemical Society**, v.134, n.06, p.3080-3083, 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja209050k>>. Acesso em: 13/06/2014.

SCHÜTZENMEISTER, N., *et al.* Trapped in misbelief for almost 40 years: selective synthesis of the four stereoisomers of mefloquine. **Chemistry European Journal**, v.19, n.51, p.17584-17588, 2013. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chem.201303403/pdf>>. Acesso em: 13/05/2014.

SIRAWARAPORN, W. Dihydrofolate reductase and antifolate resistance in malaria. **Drug Resistance Updates**, v.01, p.397-406, 1998. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368764698800150>>. Acesso em: 15/05/2014.

STILL, W. C., KAHN, M, MITRA, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. **The Journal of Organic Chemistry**, v.43, n.14, p.2923-2935, 1978. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo00408a041> >. Acesso em: 22/07/2014.

SHI, Y., DABROWIAK, J. C. Host –guest interactions involving platinum anticancer agents. DNA binding and cytotoxicity of a β -cyclodextrin-adamantane-Pt(IV) complex. **Inorganica Chimica Acta**, v.393, p.337-339, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169312003908v>>. Acesso em: 29/07/2014.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. **Normas para apresentação de documentos científicos**. 2ª edição. Curitiba: Editora UFPR, 2007.

VALE, N., MOREIRA, R., GOMES, P. Primaquine revisited six decades after discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.44, n.03, p.937-953, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523408004030>>. Acesso em: 14/05/2014.

VAROTTI, F., *et al.* Synthesis, antimalarial activity, and intracellular targets of MEFAS, a new hybrid compound derived from mefloquine and artesunate. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.52, n.11, p.3868-3874, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2573098/>>. Acesso em: 12/03/2014.

VERNALIS RESEARCH LIMITED. Robin Shepherd. **Use of (+)mefloquine for the treatment of malaria**. AU 199865068 B2, nº 730818, 1998. Disponível em: <<http://patents.justia.com/patent/6664397>>. Acesso em: 30/06/2014.

WALSH, J. J., *et al.* A novel artemisinin-quinine hybrid with potent antimalarial activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.17, n.13, p.3599-3602, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17482816>>. Acesso em: 01/07/2014.

WANG, J., *et al.* Artemisinin directly targets malarial mitochondria through its specific mitochondrial activation. **PloS one**, v.05, n.03, p.9582, 2010. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2833198&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 24/06/2014.

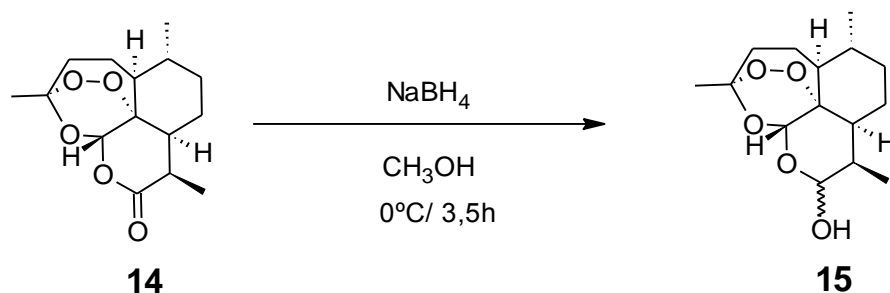
WHITE, N. Preventing antimalarial drug resistance through combinations. **Drug Resistance Updates**, v.01, n.01, p.03-09, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17092790>>. Acesso em: 27/06/2014.

ZHOU, G., *et al.* A stereospecific synthesis and unambiguous assignment of the absolute configuration of (-)-*erythro*-Mefloquine Hydrochloride. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v.355, n.18, p.3575-3580, 2013. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adsc.201300531/epdf/>>. Acesso em: 17/03/2015.

ZHU, K., *et al.* Synthesis of Z-5-Carboxymethylene-1,3-dioxolan-4-ones: a better way. **Journal of Organic Chemistry**, v.72, n.10, p.3949-3951, 2007. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jo0700171>>. Acesso em: 17/03/2015.

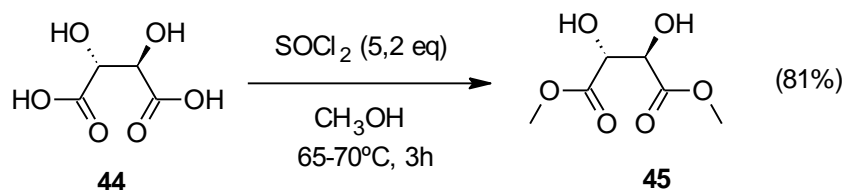
ANEXOS

ANEXO 1: SÍNTESE DA DIHIDROARTEMISININA (15)



Em balão de vidro de 125 mL, foram adicionados 500 mg (1,77 mmol) de artemisinina e 25 mL de metanol. O sistema foi levado a banho de gelo e mantido a 0°C sob agitação. Procedeu-se então a lenta adição de 500 mg NaBH_4 (13,2 mmol; 7,4 eq), durante 2 horas. Após esse tempo, o sistema foi mantido a 0°C por mais 1,5 horas.

Ao fim deste tempo, foi adicionado o volume de 780 μL de ácido acético. Parte do solvente da reação foi evaporado a vácuo. A etapa seguinte consistiu na adição de 15 mL de água fria para a precipitação da dihidroartemisinina gerada. O conteúdo do balão foi filtrado a vácuo, e o sólido branco formado seco em capela. Após a secagem, o produto foi lavado com uma mistura fria de H_2O /metanol (2:1). O sólido foi então dissolvido em diclorometano, e a fase orgânica formada seca com Na_2SO_4 anidro. Por fim, evaporou-se o solvente a vácuo, obtendo-se o produto como um sólido branco (rendimento de 53%).

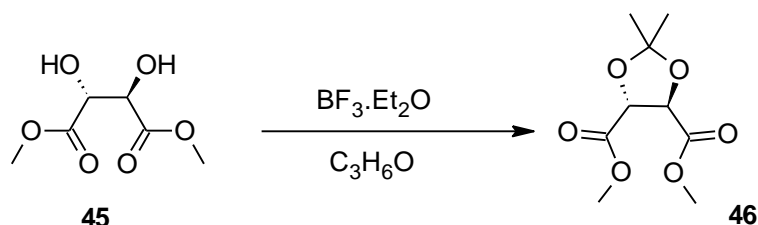
ANEXO 2: SÍNTESE DO DIMETIL (2*R*,3*R*)-2,3-DIHIDROXIBUTANODIATO (**45**)

Em um balão de vidro de 125 mL foram misturados 2g (13,3 mmol) de ácido L-(+)-tartárico e 6,3 mL de metanol anidro. A esse sistema, com agitação e em banho de gelo (0°C), adicionou-se gota a gota o volume de 5,05 mL de SOCl_2 (69,5 mmol, 5,2 eq). O sistema foi mantido sob agitação a 0°C por 1 hora.

Decorrido esse tempo, o sistema foi aquecido ao refluxo, mantido nessas condições por 1 hora, verificando-se a formação de uma solução amarelo-clara. O sistema foi então resfriado à temperatura ambiente. O material volátil foi evaporado a vácuo. Ao produto oleoso remanescente, foram acrescentados 5 mL de água destilada, e a mistura foi transferida a um funil de separação, no qual realizaram-se 8 extrações com acetato de etila (5 mL).

A fase orgânica foi separada e seca com Na_2SO_4 anidro. Evaporou-se o solvente a vácuo. O óleo amarelo resultante foi caracterizado por espectrometria de RMN de ^1H (rendimento de 81%).

ANEXO 3: SÍNTESE DO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4,5-DICARBOXILATO DE DIMETILA (**46**)

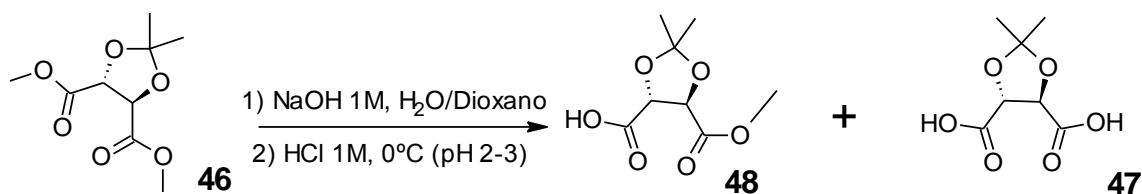


Em um sistema contendo 0,5 g (2,81 mmol) de tartarato de dimetila (**45**) e 8,6 mL (117,12 mmol) de acetona, a 0°C, com agitação e atmosfera de argônio, adicionou-se lentamente o volume de 0,4 mL (3,3 mmol, 1,2 eq) de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. O sistema foi mantido nessas condições por 30 minutos. Em seguida, o banho de gelo foi retirado, e o sistema foi mantido em agitação à temperatura ambiente por 24 horas.

O meio reacional foi então transferido para um funil de separação, ao qual foram adicionados 21 mL de solução saturada de NaHCO_3 . O conteúdo do funil foi então extraído com 5 mL de acetato de etila (3 extrações). Os extratos orgânicos foram combinados, seguindo-se três lavagens com água destilada (5 mL). Após isso, foi realizada secagem com Na_2SO_4 anidro, e o solvente evaporado a vácuo.

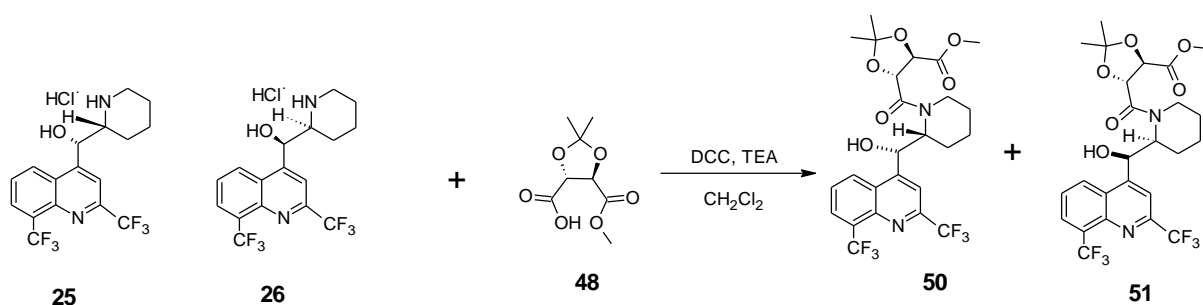
O material obtido foi purificado em coluna cromatográfica utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e uma mistura de ciclohexano/acetato de etila (5:1) como fase móvel (rendimento de 45%).

ANEXO 4: SÍNTESE DO ÁCIDO (4*R*,5*R*)-5-(METOXCARBONIL)-2,2 DIMETIL-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**48**)



Em um balão de vidro de 10 mL foram adicionados 0,1 g (0,45 mmol) do composto **46** e 2,3 mL de uma mistura 1:1 de água destilada e dioxano. O sistema foi mantido sob agitação. Adicionou-se então, gota a gota, o volume de 0,45 mL de uma solução de NaOH 1M (0,45 mmol calculados em termos de NaOH = 1 eq) durante 0,5 h. Após isso, manteve-se a reação em agitação durante 1 hora à temperatura ambiente. Ao término desse tempo, extraiu-se o sistema três vezes com DCM, e a fase orgânica foi descartada. A fase aquosa remanescente foi resfriada a 0°C em banho de gelo, e adicionou-se lentamente solução de HCl 1M até pH 2-3. Procederam-se três extrações com DCM, e a fase orgânica foi separada, filtrada em Na₂SO₄ anidro e evaporada a vácuo. O material sólido obtido foi eluído em coluna cromatográfica (fase móvel: éter de petróleo/AcOEt 5:1, seguida de AcOEt) e o produto de coluna foi analisado por espectroscopia de RMN de ¹H (Rendimento de 40%).

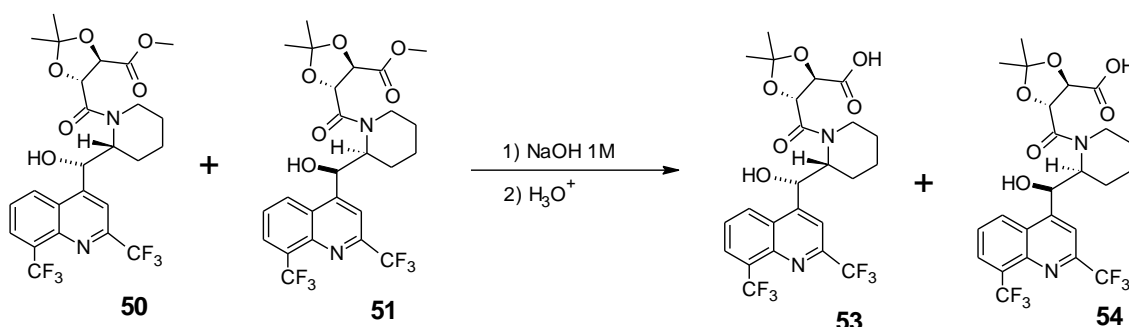
ANEXO 5: SÍNTESE DA MISTURA DE DIASTEREOISÔMEROS (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{{(*S*)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL]}[(2'*R*)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO DE METILA (**50**); E (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{{(*R*)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL]}[(2'*S*)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXILATO DE METILA (**51**)



Em um vial de vidro de 4 mL, adicionaram-se 0,07 g (0,343 mmol; 1,4 eq) do composto **48**, dissolvido em 1 mL de CH₂Cl₂. O sistema foi resfriado a 0°C (banho de gelo), e acrescido da massa de DCC (0,07g; 0,361 mmol; 1,4 eq), mantendo-se por 15 minutos em agitação a 0°C. Após esse tempo, dissolveu-se a massa do cloridrato de mefloquina (**25** e **26**) (0,1 g; 0,24 mmol) em 1 mL de CH₂Cl₂ e 0,036 mL (0,266 mmol; 1,1 eq) de trietilamina. O sistema foi aquecido à temperatura ambiente, e mantido em agitação por até 24 horas.

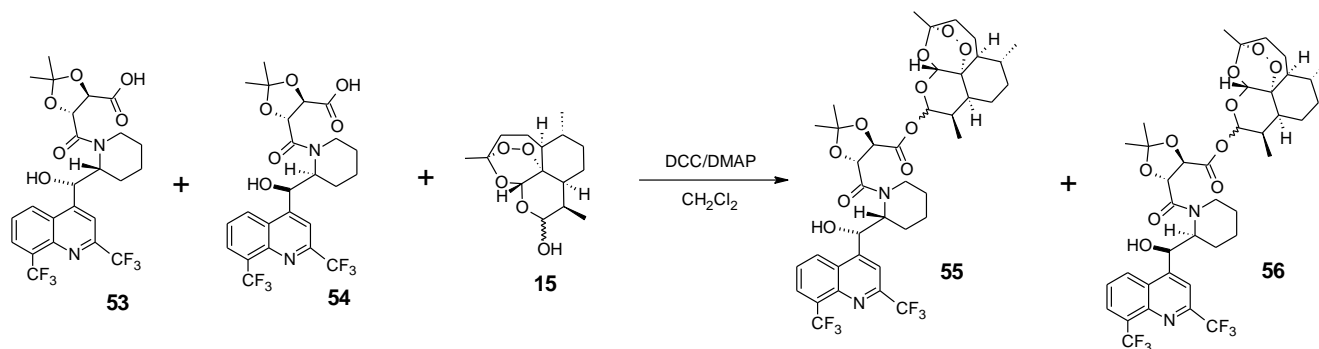
Ao término do tempo de reação, o meio reacional foi diluído com hexano, e resfriado a - 4°C, verificando-se a formação de um precipitado (DHU). O sistema foi então filtrado em funil de vidro sinterizado contendo celite, lavando-se com hexano resfriado. O filtrado foi evaporado a vácuo, sendo posteriormente eluído em coluna cromatográfica (fase móvel: CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 28%-30% 100:10:1) (Rendimento = 11%).

ANEXO 6: SÍNTESE DA MISTURA DE ÁCIDO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{(S)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2'*R*)-PIPERIDIN-2'-IL] METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**53**); E ÁCIDO (4*R*,5*R*)-2,2-DIMETIL-5-{(R)-[2',8'-BIS(TRIFLUORMETIL)QUINOLIN-4'-IL](2'*S*)-PIPERIDIN-2'-IL]METANOL}-1,3-DIOXOLANO-4-CARBOXÍLICO (**54**)



Em um vial de vidro contendo 0,0633 g (0,112 mmol) da mistura diastereoisomérica de **50** e **51**, dissolvida em 1 mL de uma mistura 1:1 de água e dioxano, sob agitação, adicionou-se gota a gota o volume de 0,112 mL de uma solução de NaOH 1M (0,112 mmol calculados em termos de NaOH = 1 eq) durante 0,5 h. O sistema foi mantido sob agitação enquanto monitorado por CCD (fase móvel: CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 28%-30% 100:10:1, visualização com orcinol). Após 15 minutos verificou-se total consumo do material de partida e a reação foi considerada finalizada.

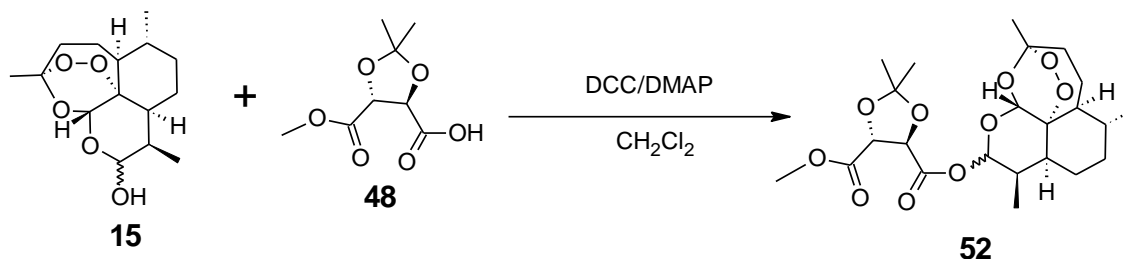
O meio reacional foi transferido a um funil de separação e extraído três vezes com CH₂Cl₂, separando-se a fase aquosa, e resfriando-a a 0°C, sob agitação. O pH foi ajustado com solução aquosa de HCl (1M). Após isso, procederam-se três novas extrações com CH₂Cl₂, e a fase orgânica foi coletada, filtrada com Na₂SO₄ anidro, evaporando-se posteriormente o solvente a vácuo. (Rendimento de 30%).

ANEXO 7: REAÇÃO ENTRE **53** E **54** COM A DIHIDROARTEMISININA **15**

Em um vial de vidro de 4 mL, adicionaram-se 0,031 g (0,06 mmol; 1,4 eq) da mistura **53/54**, dissolvida em 1 mL de CH_2Cl_2 . O sistema foi resfriado a 0°C (banho de gelo), e acrescido da massa de DCC (0,012g; 0,06 mmol; 1,4 eq), e quantidade catalítica de DMAP, mantendo-se por 15 minutos em agitação a 0°C . Após esse tempo, dissolveu-se a massa de dihidroartemisinina (**15**) (0,012 g; 0,04 mmol) em 1 mL de CH_2Cl_2 e 0,006 mL (0,05 mmol; 1,1 eq) de trietilamina. O sistema foi aquecido à temperatura ambiente, e mantido em agitação por até 24 horas.

Ao término do tempo de reação, o meio reacional foi diluído com hexano, e resfriado a -4°C , verificando-se a formação de um precipitado (DCC). O sistema foi então filtrado em funil de vidro sinterizado contendo celite, lavando-se com hexano resfriado. O filtrado foi evaporado a vácuo, sendo posteriormente eluído em coluna cromatográfica (fase móvel: $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 28%-30% 100:10:1) (Rendimento = 10%).

ANEXO 8: REAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DA DIHIDROARTEMISININA (**15**) AO COMPOSTO **48**



Em um vial de vidro de 4 mL, adicionaram-se 0,1 g (0,49 mmol; 1,4 eq) do composto **48**, dissolvido em 1 mL de CH_2Cl_2 . O sistema foi resfriado a 0°C (banho de gelo), e acrescido da massa de DCC (0,1g; 0,49 mmol; 1,4 eq), e quantidade catalítica de DMAP, mantendo-se por 15 minutos em agitação a 0°C . Após esse tempo, dissolveu-se a massa de dihidroartemisinina (**15**) (0,1 g; 0,35 mmol) em 1 mL de CH_2Cl_2 e 0,05 mL (0,38 mmol; 1,1 eq) de trietilamina. O sistema foi aquecido à temperatura ambiente, e mantido em agitação por até 24 horas.

Ao término do tempo de reação, o meio reacional foi diluído com hexano, e resfriado a -4°C , verificando-se a formação de um precipitado (DHU). O sistema foi então filtrado em funil de vidro sinterizado contendo celite, lavando-se com hexano resfriado. O filtrado foi evaporado a vácuo, sendo posteriormente eluído em coluna cromatográfica (fase móvel: $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 28%-30% 100:10:1) (Rendimento = 7%).